

COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE CLORURO DE  
POLIVINILO DE 8 HONGOS AISLADOS DE UN SUELO CONTAMINADO CON  
RESINA DE PVC

**INGRID KATHERINE DÍAZ SUÁREZ**  
**IVONE JOHANNA ROMERO LASPRILLA**

Universidad Libre  
Facultad de Ingeniería  
Departamento de Ingeniería Ambiental  
Bogotá, 25 de mayo 2021

COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE CLORURO DE  
POLIVINILO DE 8 HONGOS AISLADOS DE UN SUELO CONTAMINADO CON  
RESINA DE PVC

**INGRID KATHERINE DÍAZ SUÁREZ (1) Cód. 064171027**  
**IVONE JOHANNA ROMERO LASPRILLA (2) Cód. 064152001**

Propuesta de Trabajo de Grado para optar al título de Ingeniero Ambiental

Director: MSc. Patricia Joyce Pamela Zorro Mateus

Universidad Libre  
Facultad de Ingeniería  
Departamento de Ingeniería Ambiental  
Bogotá, 25 de mayo 2021

## HOJA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado titulado “COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE CLORURO DE POLIVINILO DE 8 HONGOS AISLADOS DE UN SUELO CONTAMINADO CON RESINA DE PVC” realizado por las estudiantes Ingrid Katherine Díaz Suárez e Ivone Johanna Romero Lasprilla y con códigos 64171027 y 64152001 respectivamente, cumple con todos los requisitos legales exigidos por la Universidad Libre para optar al título de Ingeniero Ambiental.

---

Firma del director de proyecto

---

Firma del evaluador 1

---

Firma del evaluador 2

Bogotá D.C, 25 mayo 2021.

## DEDICATORIA

Dedico la presente investigación a mi familia por su apoyo, en especial a mi mamá por su constante amor y ánimo para que culminara mi trabajo de grado.

También a mi papá ya que muchos de los logros que he cumplido se los debo a su crianza incluido este.

A mis compañeros y profesores quienes todo este tiempo aportaron sus conocimientos y estuvieron presentes en lo largo de mi carrera.

*Ivone Romero*

A Dios por su guía y sabiduría necesaria para cumplir un sueño más y darme la fortaleza de superar las dificultades que se presentaron para el desarrollo de este trabajo de grado.

A mi mamá por ser mi mejor amiga, mi apoyo, gracias por tus enseñanzas, por tu esfuerzo y por tu comprensión en este proyecto de investigación.

A mi papá por su paciencia y apoyo durante todo este proceso que me ha permitido llegar a cumplir hoy una meta.

*Katherine Díaz*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al director de tesis Patricia Joyce Pamela Zorro Mateus por su tiempo, guía y dedicación, quien, con sus conocimientos y experiencia, hizo posible el desarrollo de este trabajo de grado. Además, queremos agradecer su orientación y compromiso durante el proceso que requiere realizar un proyecto de investigación.

A la doctora María Teresita Ortiz Villota por las observaciones que realizó a nuestro trabajo, las cuales fueron de mucho conocimiento para mejorar, así mismo le dedicamos este trabajo.

A las directivas y personal encargado de los laboratorios de la Universidad Libre por brindarnos los espacios, herramientas, máquinas y apoyo para la realización del presente trabajo de grado.

A los docentes del programa de ingeniería ambiental por brindar aportes y conocimiento a nuestra formación académica y profesional.

A nuestras familias por su apoyo, esfuerzo y dedicación que nos brindaron durante nuestra carrera profesional.

*Katherine Díaz e Ivone Romero*

## RESUMEN

El alto consumo del hombre por los plásticos conlleva a la creciente generación de residuos, lo cual implica problemas severos de contaminación para la fauna, el suelo, el agua y la salud humana. Pese a que existen diferentes alternativas para la gestión de estos residuos como la incineración, el reciclaje y la foto degradación. Estas técnicas tienen desventajas por su costo elevado de aplicación, la baja efectividad y la producción de otros contaminantes. Una alternativa que existe es la biodegradación, la cual consiste en transformar el PVC en sustancias más sencillas a partir del metabolismo de los hongos que producen enzimas intra y extracelulares. Dado lo anterior, en esta investigación se probaron 8 hongos para evaluar su capacidad de degradación de unas láminas de PVC sin plastificante. Se realizó una prueba preliminar en medio semilíquido con láminas de PVC y se midió la eficiencia de degradación de cada uno. Luego, se probó su degradación en un ensayo en suelo con láminas de PVC. Los resultados mostraron que *Paecilomyces sp.*, presentó una degradación adecuada del material en las pruebas por el aumento de masa de los hongos y la pérdida de peso en las láminas de PVC. Esto se atribuye a que el metabolismo del hongo estaba iniciando el proceso químico para reducir el grado de polimerización del PVC. En cambio, *Penicillium sp.*, (A) no mostró un buen desempeño en la prueba ya que su aumento en masa de biopelícula fúngica con respecto al blanco fue similar. Deben realizarse más ensayos de degradación con estos hongos pues son una opción prometedora para cerrar el ciclo del PVC.

**Palabras claves:** biodegradación, biopelículas, PVC, hongos, contaminación ambiental.

## ABSTRACT

Man's high consumption of plastics leads to the increasing generation of waste, which implies severe pollution problems for fauna, soil, water and human health. Even though there are different alternatives for the management of this waste such as incineration, recycling and photo degradation. These techniques have disadvantages due to their high application cost, low effectiveness, and the production of other contaminants. An alternative that exists is biodegradation, which consists of transforming PVC into simpler substances from the metabolism of fungi that produce intra and extracellular enzymes. Given the above, in this research 8 fungi were tested to evaluate their degradation capacity of PVC films without plasticizer. A preliminary test was carried out in a semi-liquid medium with PVC films and the degradation efficiency of each one was measured. Then, their degradation was tested in a soil test with PVC films. The results showed that *Paecilomyces sp.*, presented an adequate degradation of the material in the tests due to the fungal mass increase and the PVC films weight loss. This is attributed to the fact that the metabolism of the fungus was initiating the chemical process to reduce the degree of polymerization of PVC. On the other hand, *Penicillium sp.*, (A) did not show a good performance in the test since its increase in biofilm mass with respect to the target was similar. More degradation tests should be carried out with these fungi as they are a promising option to close the PVC cycle.

**Key words:** biodegradation, biofilms, PVC, fungi, environmental pollution.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	11
JUSTIFICACIÓN .....	12
1. GENERALIDADES.....	14
1.1. PROBLEMA .....	14
1.2 . OBJETIVOS. ....	17
1.2.1. OBJETIVO GENERAL. ....	17
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
1.3. DELIMITACIÓN O ALCANCE.....	18
1.4. METODOLOGÍA .....	18
1.4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	18
1.4.2. CUADRO METODOLÓGICO.....	19
1.4.3. DISEÑO METODOLÓGICO.....	21
1.4.3.1. <i>Estudio de la formación de biopelículas de los hongos en una resina de PVC sin plastificante.</i> .....	22
1.4.3.2. Clasificación morfológica de las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.....	24
1.4.3.3. Prueba de los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.....	25
1.4.3.4. Análisis estadístico .....	26
1.4.4. MARCO LEGAL.....	26
1.5. MARCO REFERENCIAL .....	29
1.5.1. MARCO HISTÓRICO .....	29
1.5.2. MARCO CONCEPTUAL .....	32
1.5.2.1. Hongos.....	32
1.5.2.2. Aislamiento de hongos.....	32
1.5.2.3. Medios de cultivo .....	32
1.5.2.4. Suelo blanco .....	32



1.5.2.5. Medio mínimo de sales (MMS) .....	33
1.5.2.6. Biodegradación .....	33
1.5.2.7. Cloruro de Polivinilo .....	33
1.5.2.8. Biodegradación de los aditivos .....	34
1.5.2.10. Biopelículas fúngicas.....	37
1.5.2.11. Determinación de crecimiento del hongo en biopelículas fúngicas: .....	38
1.5.2.12. Análisis Infrarrojo .....	38
1.5.3. MARCO GEOGRÁFICO .....	40
2. DESARROLLO DEL PROYECTO .....	40
2.1. Estudio de la formación de biopelículas de los hongos en una resina de PVC sin plastificante.....	40
2.2. Clasificar morfológicamente las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.....	46
2.3. Probar los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.....	51
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	55
3.1. Estudiar la formación de biopelículas de los hongos estudiados en una resina de PVC sin plastificante. ....	55
3.2. Clasificar morfológicamente las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.....	58
3.3. Probar los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.....	61
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES .....	65
REFERENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	65

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de la metodología del proyecto, en resumen .....	19
Tabla 2. Normatividad aplicable a nivel nacional.....	27
Tabla 3. Datos de pruebas preliminares .....	41
Tabla 4. Asignación de las bandas de transmitancia observados en los espectrogramas de FTIR	46
Tabla 5. Clasificación microscópica y macroscópica de los hongos.....	47
Tabla 6. Masa ganada por la biopelícula en la prueba en suelo.....	51

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de las fases para la degradación de cloruro de polivinilo. ....	21
Figura 2. Hongos en pruebas preliminares. ....	23
Figura 3. FTIR Espectro de Policloruro de Vinilo.....	39
Figura 4. Ubicación de la universidad .....	40
Figura 5. Cajas Petri pruebas preliminares.....	41
Figura 6. % de Masa de biopelícula adherida a la lámina de PVC en las pruebas preliminares.....	42
Figura 7. Masa ganada por hongo plantónico en las pruebas preliminares .....	43
Figura 8. Láminas de PVC recuperadas .....	44
Figura 9. FTIR Láminas correspondientes a los aislamientos en prueba preliminar.....	45
Figura 10. FTIR lámina PVC blanco en prueba preliminar.....	46
Figura 11. % de Masa ganada por la biopelícula.....	52
Figura 12. FTIR láminas de PVC en el suelo.....	53
Figura 13. FTIR Lámina Blanco de PVC en el suelo .....	54
Figura 14. Microscopia <i>penicillium</i> sp. ....	59
Figura 15. Microscopía <i>paecilomyces</i> sp. ....	59
Figura 16. Microscopía <i>sympodiella</i> sp.....	61

## INTRODUCCIÓN

El cloruro de polivinilo (PVC) es uno de los polímeros plásticos más utilizados. Se ha proyectado que la producción mundial de PVC aumentará en aproximadamente un 3,2% anual hasta 2021 (Ceresana, 2014). Además, las velocidades de reacción de degradación natural son bastante lentas en comparación con la gran demanda y producción de PVC en todo el mundo (Tang, Chen, Brimblecombe & Lee, 2018).

La biodegradación surge como un proceso químico para reducir el grado de polimerización del PVC en compuestos orgánicos simples usando el metabolismo de los microorganismos como bacterias y hongos (Aradilla, Oliver & Estrany, 2010). Para ello la biodegradación de plásticos como el PVC implica al menos tres reacciones: a) despolimerización o ruptura de cadenas de polímeros; b) formación de intermedios oxidados, y c) mineralización de intermedios a  $\text{CO}_2$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ; cuando el PVC es el objetivo de degradación. La primera y esencial reacción es la despolimerización (Bo-Yu Peng, Zhibin Chen, Jiabin Chen, Huarong Yu, Xuefei Zhou, Craig S, Wei-Min Wu & Yalei Zhang, 2020).

En el desarrollo de esta investigación se partió de 8 hongos aislados de un suelo contaminado con resina de PVC con los cuales se realizó una prueba preliminar en medio semilíquido. Luego se seleccionaron para un ensayo en suelo mediante los siguientes criterios: masa ganada del hongo plantónico en el medio, diferencias entre los espectros IR de las películas antes y después del tratamiento, formación de biopelícula en la lámina de PVC la cual indica la despolimerización, y cambios cualitativos finales en las láminas de PVC. Los hongos con mejor resultado en la prueba preliminar fueron E10 y C4 identificados como *Sympodiella* sp. y *Paecilomyces* sp., al ser los aislamientos con

mayor generación de biopelícula. En cambio, en la prueba en suelo Z1 y A identificados como *Penicillium* sp., fueron quienes presentaron mayor adherencia en las láminas de PVC, en comparación con los demás, aunque en menor proporción que los resultados obtenidos en la prueba preliminar.

## **JUSTIFICACIÓN**

Debido a su difícil mineralización la acumulación de plásticos en el medio ambiente lo convierte en uno de los contaminantes más importantes de los suelos, la fauna, las especies que habitan los ecosistemas, los ríos, los lagos y océanos (Pescador, 2013). Las soluciones para la gestión de residuos plásticos incluyen reducción de la fuente, incineración, reciclaje o fotodegradación (Plastivida, 2007). Sin embargo, la mayoría de estos tienen problemas asociados con ellos como el costo elevado, la baja efectividad y la producción de otros contaminantes (Khanna & Srivastava, 2005).

Considerando la problemática planteada anteriormente, la degradación biológica de plásticos como el PVC se postula como una alternativa (Aradilla, Francesc & Ramón, 2007) importante desde el punto de vista de la salud humana, de los objetivos de desarrollo sostenible ya que contribuye a la protección del medio ambiente factor que influye en el desarrollo sostenible y económico. Los hongos son organismos heterotróficos que sintetizan enzimas intra y extracelulares, tienen capacidad para transformar prácticamente cualquier tipo de sustrato orgánico y participan en la oxidación de algunos compuestos inorgánicos. Los plásticos son materiales poliméricos orgánicos; la mayoría elaborados con derivados del petróleo (Méndez, Vergaray & Béjar, 2007). Además, algunos hongos como *Phanerochaete chrysosporium*, *Lentinus tigrinus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sydowii* sp., han

presentado potencial para biodegradar películas de PVC comprobando un cambio significativo en el color, deterioro de la superficie de las películas de PVC y crecieron las cepas de hongos en las películas de PVC después de 10 meses de estar en el suelo (Muhammad, Safia, Geoff, Imran, Naeem, Naima & Abdul, 2013). El deterioro de la superficie del polímero es un proceso interfacial y los microorganismos tienen la capacidad de colonizar las superficies del polímero como biopelículas. Estas biopelículas consisten en células incrustadas en una matriz polimérica de su propio origen, que contiene polisacáridos y proteínas (Hassan et al., 2014).

Este proyecto es la continuación del proyecto desarrollado por la estudiante Luisa Pardo titulado “Estudio de la degradación de policloruro de vinilo sin plastificante a partir de hongos aislados de una muestra de suelo contaminado con resina de dicho material”, en este proyecto se evaluarán aproximadamente 8 cepas fúngicas que fueron aisladas en el proyecto hecho por Luisa Pardo, pero las cuáles no fueron clasificadas taxonómicamente y cuya actividad degradadora de PVC tampoco fue evaluada (Pardo, 2018). Por lo anterior, en este proyecto se busca evaluar la capacidad de degradación de PVC por medio de estos aislamientos fúngicos de forma indirecta, midiendo la formación de biopelículas fúngicas sobre las películas PVC y probando luego estos hongos con las películas en suelo.

## **1. GENERALIDADES**

### **1.1. PROBLEMA**

El PVC ha sido ampliamente utilizado en el mundo desde principios de la década de 1960, se estima en más de 35 millones de toneladas por año, de las cuales aproximadamente la mitad se encuentra todavía en uso en productos provenientes de los sectores de construcción, salud, electrónica, automóviles, etc., (Ortega, Coria & Gonzales, 2016). El mercado del PVC en Colombia está repartido de la siguiente manera. Pavco controla el 65,8%, le sigue Gerfor con el 21.5%, Durman con el 7.2% y Tubosa con el 2.4%. El resto está en manos de decenas de empresas transformadoras a lo largo de todo el país, sector que genera 198 mil empleos directos (Mexichem, 2016). Hoy en día se estima que, en el país, se consumen aproximadamente 24 kg per cápita, de productos plásticos, lo que implica un volumen anual de consumo de plásticos de 1.250.000 toneladas, es decir, empaques, embalajes PET, entre otros (GREENPEACE, 2018). En Colombia el 17% de los residuos generados en el país son reciclados, aunque este procedimiento facilita la disminución de este elemento (Herazo, Delgado & Sosa, 2018) el problema persiste. Uno de los recursos que se ve afectado por este material es el suelo ya que estas sustancias tardan hasta miles de años en descomponerse en fragmentos más pequeños conocidos como los microplásticos y a su vez van contaminando (ONU, 2018). Por otro lado, la contaminación por basuras marinas son problemas globales que degradan los sistemas biológicos impidiendo funciones fisiológicas, el crecimiento y la supervivencia de las especies animales (Rojo & Montoto, 2017). Según la FAO, en un estudio de 25 especies de peces de importancia comercial como crustáceos y

moluscos encontraron que 11 contenían microplásticos (FAO, 2019). Aunque es altamente probable que los humanos ingieran micro y nanopartículas de plástico, no se conocen los impactos directos sobre la salud (WWF, 2019). La escasa información disponible parece indicar que el agua potable que está contaminada por estos materiales no es perjudicial para la salud humana, al menos a los niveles actuales según la doctora María Neira (OMS, 2019).

La contaminación del medio ambiente con PVC proviene en su mayoría del alto consumo de estos materiales y por ende de los desechos generados que no se les realiza la adecuada disposición o separación para su posible reutilización (Téllez, 2012). Si bien es cierto que las técnicas que se han empleado para darle manejo a los residuos plásticos solucionan el problema en el momento, a futuro genera otras dificultades, en primer lugar, la disposición de los productos en lugares inadecuados convirtiendo esas áreas en focos generadores de enfermedades, contaminación y transformando esos espacios en terrenos inestables (Pacheco, Fuentes, Sánchez & Rondón, 2017).

En segundo lugar, la incineración que se efectúa para los materiales contaminados o envases flexibles (Reyes, 2008), entre los plásticos de uso más generalizado está el PVC que produce una elevada contaminación en su fabricación, y al realizarle el procedimiento mencionado anteriormente produce una de las sustancias más tóxicas conocidas como dioxinas y furanos (Quiñones, 2014). Al final el reciclaje no es rentable, pues demanda altos recursos financieros (Realpe, 2009). Los rellenos sanitarios generan costos, tienen un tiempo de vida útil limitante y requieren de nuevas estrategias a corto plazo (Expertos en Gestión de Residuos, 2018). Sin embargo,

estas técnicas no son suficientes pues el desarrollo industrial en el país aumenta, como consecuencia producen más residuos y desechos, ocasionando impactos en el suelo ya que los polímeros representan un riesgo ambiental (Frías, Leman & Gavilán, 2003).

Entre los componentes del medio ambiente otro que se ve directamente afectado es el mar, pues el 80% de plásticos deriva de fuentes terrestres y por causas naturales de las corrientes marinas junto con los vientos y la presión atmosférica producen una circulación que engloba los desechos flotantes y los mantiene unidos en esa masa de agua (Elías, 2015). Después, los animales marinos por error, lo confunden con alimentos, causándoles complicaciones de salud o incluso la muerte, en las playas causan problemas estéticos, la recolección implica costos, su descomposición tarda tiempo entre otros factores que implica estos materiales en el agua (Iñiguez, 2019). A partir de lo anterior con el desarrollo de este trabajo de investigación se busca dar solución al problema: ¿Tendrán capacidad de degradar películas de PVC los 8 aislamientos de hongos provenientes de suelo expuesto a este material y que no alcanzaron a ser probados en el trabajo anterior?.



## **1.2. OBJETIVOS.**

### **1.2.1. OBJETIVO GENERAL.**

Comparar la capacidad de degradación de cloruro de polivinilo de 8 aislamientos fúngicos obtenidos de un suelo contaminado con resina de PVC.

### **1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Estudiar la formación de biopelículas de los hongos estudiados en una resina de PVC sin plastificante, como primer indicio de su capacidad de degradación de este material.
- Clasificar morfológicamente las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.
- Probar los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.

### **1.3. DELIMITACIÓN O ALCANCE**

El presente trabajo de investigación abarca únicamente la degradación de PVC sin plastificante empleando hongos, a nivel de laboratorio. La mayoría de estudios de degradación de PVC se han realizado con bacterias por lo que la información de degradación con hongos es reducida actualmente. Se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Libre de Colombia, en un lapso de 1 año.

### **1.4. METODOLOGÍA**

#### **1.4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Esta investigación es de tipo cuantitativa y cualitativa porque los procedimientos desarrollados se determinan a partir de métodos de medición o con la identificación de características físicas en este caso morfológicas.

## 1.4.2. CUADRO METODOLÓGICO

Tabla 1. Cuadro de la metodología del proyecto, en resumen

OBJETIVOS		ACTIVIDADES	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS	RESULTADOS ESPERADOS
GENERAL	ESPECIFICO				
Comparar la capacidad de degradación de cloruro de polivinilo de 8 aislamientos fúngicos obtenidos de un suelo contaminado con resina de PVC.	1. Estudiar la formación de biopelículas de los hongos estudiados en una resina de PVC sin plastificante, como primer indicio de su capacidad de degradación de este material.	1.1.1. Obtención y cultivo de los hongos a probar.	1.1.1.1. Cultivo de los hongos en agares.	1.1.1.1.1. Agar de PDA y extracto de malta.	1.1.1.1.1.1. Crecimiento de los hongos en caja Petri.
		1.1.2. Prueba preliminar.	1.1.1.2. Preparar una prueba con los hongos y las películas de PVC.	1.1.1.1.2. Aislamientos fúngicos, MMS y películas de PVC.	1.1.1.1.1.2. Medir la adherencia de los hongos al PVC.
		1.1.3. Medición de la formación de biopelículas al material.	1.1.1.3. Pesar las películas de PVC.	1.1.1.1.3. Balanza analítica.	1.1.1.1.1.3. Diferencia de masas en la degradación.
		1.1.4. Medición del crecimiento del hongo.	1.1.1.4. Filtrado al vacío de los hongos.	1.1.1.1.4. Embudo Buchner y horno.	1.1.1.1.1.4. Cambios de masa.
		1.1.5. Medición de la	1.1.1.5. Espectro IR de las láminas	1.1.1.1.5. FTIR	1.1.1.1.1.5. Grado de

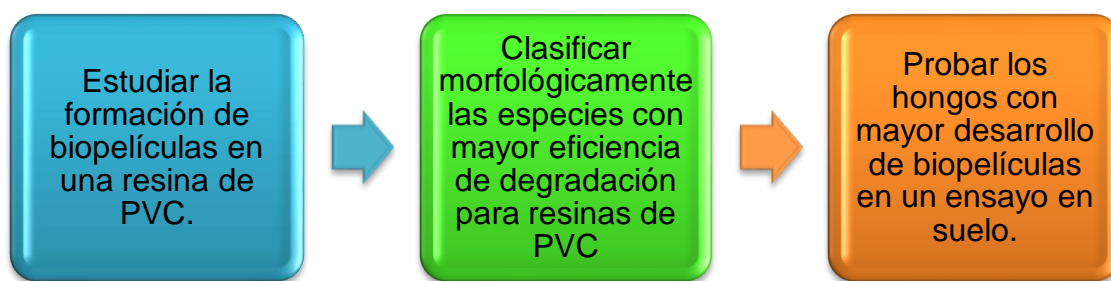
		degradación de la película de PVC.	de PVC. <b>1.1.2.5.</b> Cambios cualitativos en las películas	<b>1.1.1.2.5.</b> Visualización.	degradación en las películas. <b>1.1.1.1.2.5.</b> Cambios físicos en las laminas
		<b>1.1.6.</b> Análisis estadístico.	<b>1.1.1.6.</b> Prueba de hipótesis.	<b>1.1.1.1.6.</b> Student LSD y t- varianza.	<b>1.1.1.1.1.6.</b> Determinar los hongos que son diferentes al blanco.
	<b>2.</b> Clasificar morfológicamente las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.	Caracterizar macroscópica y microscópica las especies de los hongos.	Visualizar las estructuras fúngicas de los hongos	Microscopio y azul de lactofenol.	Determinar el tipo de especie que corresponde cada hongo.
	<b>3.</b> Probar los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.	Realizar un ensayo experimental con las muestras del suelo.	En un recipiente depositar suelo, los hongos y las películas de PVC.	Balanza analítica.	FTIR, peso y cambios físicos en las láminas de PVC.

Fuente. Autores, 2020

### 1.4.3. DISEÑO METODOLÓGICO

En la figura 1 se muestra el procedimiento que se realizó con los hongos para la degradación de cloruro de polivinilo en un suelo contaminado con resina de PVC. Los hongos empleados en la investigación ya se encontraban aislados y en medios de cultivo.

Figura 1. Diagrama de las fases para la degradación de cloruro de polivinilo.



Fuente. Autores, 2019

La aplicación del diseño experimental se desarrolló en el laboratorio bajo condiciones controladas. Dada la problemática y objetivos planteados la información recolectada fue de tipo cuantitativa y cualitativa para los dos experimentos, la prueba preliminar y el montaje en suelo.

Debido a que la variable respuesta del análisis cuantitativo fue la masa ganada por la biopelícula en cada uno de los montajes, se estableció un factor correspondiente a cada uno de los 8 aislamientos y un único nivel ya que en cada montaje se aplicaron las mismas condiciones. La información cualitativa adquirida se basó en observar cambios físicos en las láminas de PVC, comparar los espectros IR de las películas, y la clasificación morfológica de los hongos.

Luego de realizar la experimentación de acuerdo al plan previamente nombrado se

analizaron y compararon estadísticamente los resultados cuantitativos obtenidos con el fin de obtener las conclusiones apropiadas. A continuación, se describe el proceso metodológico:

#### **1.4.3.1. Estudio de la formación de biopelículas de los hongos en una resina de PVC sin plastificante.**

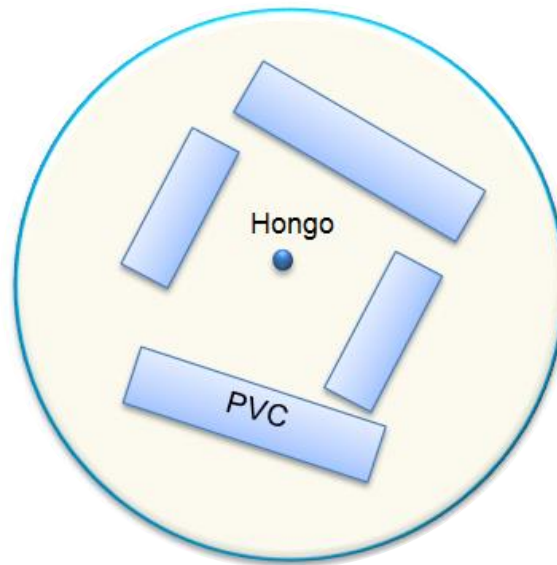
##### *Obtención y cultivo de los hongos a probar*

Se partió de 8 aislamientos fúngicos extraídos de un suelo que estaba contaminado por décadas con resina de PVC, los cuales fueron aislados en la tesis de grado “Estudio de la degradación de policloruro de vinilo sin plastificante a partir de hongos aislados de una muestra de suelo contaminado con resina de dicho material” (Pardo, 2018). Los hongos se cultivaron en agares de papa dextrosa y extracto de malta, en cajas de Petri a temperatura ambiente. Este procedimiento se llevó a condiciones estériles.

##### *Prueba preliminar*

Este ensayo se realizó como se muestra en la figura 2. Por punción se sembraron los hongos previamente aislados con medio mínimo de sales (MMS) y cuatro películas de PVC con dimensiones 1x5 cm como única fuente de carbono. El MMS se preparó con 1000 ml de agua destilada, 1 g de  $K_2HPO_4$ ; 0.2 g de  $KH_2PO_4$ ; 1 g de NaCl; 0.002 g de  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ; 0.005 g de ácido bórico; 1 g de  $(NH_4)_2SO_4$ ; 0.5 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0.001 g de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ; 0.001 g de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0.001 g de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ ; 0.5 g glucosa y 2 g de agar (Fakhrul Hassan et al., 2014).

Figura 2. Hongos en pruebas preliminares.



Fuente: Autores del proyecto, 2020

Aproximadamente las cajas de Petri estuvieron en el laboratorio por 6 meses a temperatura ambiente y sin agitación. Para cada hongo se montaron dos cajas de Petri por lo que en total fueron dispuestas 8 láminas de PVC por cada aislamiento como se muestra en la figura 2. Además, se hicieron dos montajes con 4 láminas de PVC en ausencia de aislamientos fúngicos como muestra control.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de los hongos con las láminas de PVC en las pruebas preliminares, se recuperaron las 4 películas de PVC por cada caja de petri, se dejaron secar y se midió la masa de la biopelícula de hongos adherida al PVC de la siguiente forma:

$$\text{Masa biopelícula} = \text{masa película PVC}_{+ \text{hongo adherido}} - \text{masa película de PVC}_{\text{inicial}}$$

Con la masa de la biopelícula se calculó el % de biopelícula formado en la película de PVC:

*% Masa biopelícula*

$$= \left( \frac{\text{masa película PVC}_{+ \text{hongo adherido}} - \text{masa película de PVC}_{\text{inicial}}}{\text{masa película de PVC}_{\text{inicial}}} \right) * 100$$

Además, se midió la masa del hongo que creció por fuera de la película de PVC, para esto se filtró al vacío el medio semilíquido resultante para separar el hongo del medio, el filtrado obtenido se secó a 60°C por 48 h. Después de este tiempo se pesó el papel filtro en una balanza de 5 cifras decimales y se le descontó la masa inicial del papel para obtener la masa del hongo.

Al realizar el filtrado este quedó con agar y hongo ya que el medio fue semilíquido. Por ende, para calcular la masa de los hongos crecidos, a todos se les restó la masa del blanco asumiendo que era la masa adicionada por el agar, de la siguiente forma:

*Masa ganada por el hongo*

$$= \text{masa filtrado}_{+ \text{papel filtro}} - \text{papel filtro} - \text{masa filtrado (Blanco)}$$

Finalmente, se determinaron los cambios en la película de PVC por medio de la obtención de los espectros IR de las láminas de PVC después de la prueba de biodegradación, luego de que se limpiaran con etanol al 70% y también se observaron los cambios cualitativos en las películas como grietas, color, rayones, tamaño, entre otros.

#### **1.4.3.2. Clasificación morfológica de las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.**

De los hongos obtenidos con mejor resultado se realizó una descripción macroscópica de



cada colonia del hongo sembrada en caja Petri durante 3 a 15 días con observaciones diarias en la cual se determinó la velocidad de crecimiento, la topografía, la textura, el tamaño, la pigmentación en anverso y reverso de la colonia.

También se empleó la descripción microscópica de los hongos con azul de lactofenol con el que se visualizó las estructuras fúngicas, las hifas, la presencia o ausencia de tabiques, grosor (López et. Al, 2014). Todas estas características permitieron definir claramente las especies teniendo en cuenta las claves de Domsch y Gams (Kuhar & Sequeira, 2018).

#### **1.4.3.3. Prueba de los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.**

Con los hongos ya clasificados se realizó un ensayo experimental en muestras de suelo durante 3 semanas. Cada recipiente contenía 25 g de suelo anteriormente esterilizado en autoclave a 121°C por 10 minutos, 2 láminas de PVC, que habían sido pesadas previamente, cada una de 1x5 cm y 14 ml de suspensión de esporas con MMS que fueron preparadas a partir de 1 ml de tween 80 con un conteo de 10 esporas por  $\mu\text{l}$ . Para cada hongo se hicieron dos montajes, cada uno con dos laminas de PVC, por lo que, en total, se contaba con 4 láminas de PVC por aislamiento probado. También, se realizó un blanco en el que se prepararon dos recipientes con suelo, cada uno con dos láminas de PVC en ausencia de hongos.

Cada semana se añadieron 3 ml de MMS con el objetivo de conservar la humedad en el suelo. Una vez cumplido el tiempo se recuperaron y evaluaron visualmente las películas para identificar cambios físicos. Además, se pesaron por separado las láminas de PVC recuperadas de cada recipiente y se comparó con las masas obtenidas del blanco para

conocer la masa de hongo adherida a la película. También se realizó el análisis estadístico por el método de T-student LSD, teniendo en cuenta el % de la masa de hongo adherida en las películas de PVC. Por último, se tomaron los infrarrojos de las láminas de PVC antes y después del ensayo en suelo (Gnanavel, Jeya, Thirumarimurugan & Kannadasan, 2012).

#### **1.4.3.4. Análisis estadístico**

Con los datos obtenidos en el porcentaje de la masa de biopelícula adherida en las láminas de PVC se realizó un ANOVA para rechazar la igualdad de los valores y posteriormente una prueba de hipótesis t-Student LSD que permitió encontrar las diferencias entre sí.

La hipótesis nula establece que todas las medias de la población son iguales mientras que la hipótesis alternativa que es la que se busca aceptar establece que al menos una es diferente, es decir, las medidas de los promedios de las muestras de PVC son diferentes.

Se probó una significancia del 5%; y se establecieron las siguientes hipótesis:

- Hipótesis Nula H0: Los promedios son iguales, no hay diferencia en el % de la masa de biopelícula generada por cada uno de los hongos.
- Hipótesis Alternativa H1: Los promedios son diferentes, hay diferencia en la masa de biopelícula generada por cada uno de los hongos.

Además, se calculó la dispersión en los duplicados de cada experimento.

#### **1.4.4. MARCO LEGAL**

En la normatividad de Colombia, con respecto a los procesos que se realizan para la biodegradación de cloruro de polivinilo, no se encuentra específicamente en una ley, la mayoría de la legislación se encuentra implícitamente, tales como:

Tabla 2. Normatividad aplicable a nivel nacional

NORMAS	ARTÍCULO	CONTENIDO
Por el cual se conceden facultades extraordinarias al presidente de la República para expedir el Código de Recursos Naturales y de Protección al Medio Ambiente y se dictan otras disposiciones (Ley 23 de 1973).	Artículo 1	Es objeto de la presente ley prevenir y controlar la contaminación del medio ambiente, y buscar el mejoramiento, conservación y restauración de los recursos naturales renovables.
	Artículo 3	Se consideran bienes contaminables el aire, el agua y el suelo.
Por el cual se dicta el Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente (Decreto 2811 de 1974).	Artículo 1	El ambiente es patrimonio común. El Estado y los particulares deben participar en su preservación y manejo, que son de utilidad pública e interés social.
	Artículo 8	Se consideran factores que deterioran el ambiente, entre otros: La degradación, la erosión y el revenimiento de suelos y tierras.
	Artículo 35	Se prohíbe descargar, sin autorización, los residuos, basuras y desperdicios, y en general, de desechos que deterioren los suelos.
	Artículo 183	Los proyectos de adecuación o restauración de suelos deberán fundamentarse en estudios técnicos de los cuales se induzca que no hay deterioro para los ecosistemas.
Por el cual se reglamenta la prestación del servicio público de aseo (Decreto 2981 de 2013).	Artículo 76	Los municipios o distritos deberán definir las áreas donde es posible la localización y el funcionamiento de estaciones de transferencia de residuos sólidos de conformidad con los usos

		del suelo.
Reglamenta la gestión ambiental de los residuos de envases y empaques de papel, cartón, plástico, vidrio, metal y se toman otras determinaciones (Resolución 1407 de 2018)	Considerandos	Hace énfasis en que estos residuos poseen una baja biodegradabilidad, disminuyen la vida útil de los rellenos sanitarios y al ser mal gestionados contribuyen a la contaminación del suelo y agua.
	Artículo 4	Planes de gestión ambiental de residuos de envases y empaques.
	Artículo 10	Metodología multicriterio de evaluación del cumplimiento del plan de gestión ambiental de residuos de envases y empaques.
	Artículo 11- Artículo 16	Las obligaciones desde el productor al consumidor final.
Por la cual se modifica la resolución 668 de 2016 sobre el uso racional de bolsas plásticas y se adoptan otras disposiciones (Resolución 2184 de 2019).	Artículo 1	Formato Único Nacional para la presentación del programa de Uso Racional de Bolsas Plásticas y del informe de avance.
Por la cual se prohíbe el ingreso de plásticos de un solo uso en las áreas del Sistema de Parques Nacionales Naturales Colombia y se adoptan otras disposiciones (Resolución 1558 de 2019).	Artículo 1	Prohibir el ingreso y uso de plásticos de un solo uso en las Áreas del Sistema de Parques Nacionales Naturales con vocación ecoturística, con excepción de los plásticos de un solo uso destinados a propósitos y usos médicos.

Fuente: Autores del proyecto, 2019

Sin embargo, el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial realiza instrumentos como las Guías ambientales relacionadas con el proceso de transformación de las materias plásticas, el manejo racional, el aprovechamiento y las técnicas para la separación de los residuos plásticos, principalmente de posconsumo (MADS, 2004).

## 1.5. MARCO REFERENCIAL

### 1.5.1. MARCO HISTÓRICO

Desde la comercialización del PVC y su incursión en una gran variedad de aplicaciones, los residuos de este material fueron degradados por técnicas tradicionales como la incineración, el reciclaje o la fotodegradación, las cuales mostraban importantes desventajas como por ejemplo la producción de otros contaminantes altamente tóxicos para el suelo y el aire. Con base en lo anterior surgieron estudios en los que se usaba la biodegradación la cual consiste en transformar el PVC en sustancias más sencillas a partir del metabolismo de los microorganismos. Una de las investigaciones más recientes encontrada en hongos es del año 2014 donde un grupo de científicos tomaron varias muestras de suelo con almidón aplicándole una cantidad de cepas conocidas y con láminas delgadas de PVC durante un período de 3 meses. Después trasladaron las películas a placas de agar dextrosa Sabouraud y se incubaron a 30 °C. Como resultado observaron mediante microscopía electrónica de barrido cambios de color y desintegración en la superficie de las láminas de PVC. Además, con la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier identificaron cambios estructurales considerables tales como picos a  $3.077\text{ cm}^{-1}$  (correspondientes a alquenos) y disminución de la intensidad de los picos a  $2.911\text{ cm}^{-1}$  (estiramiento C-H). Por otra parte, la cepa con mayor actividad microbiana fue *Phanerochaete chrysosporium* ya que logró una disminución en el peso molecular de la película de PVC mezclada con el almidón de 78.866 Da que en comparación con la muestra de control fue de 80.275 Da (Ali, Ahmed, Javed, Ali, Atiq, Hameed & Robson, 2014).

Por otro lado, en la ciudad Rio Claro, Brasil estudiaron la biodegradación en varios polímeros como el alcohol polivinílico (PVA), policloruro de vinilo (PVC) y policaprolactona

(PCL). Para este procedimiento las películas fueron enterradas en el suelo contaminado e incubado durante 120 días a 28 °C. Después mediante el uso de las técnicas de respirometría, espectrofotometría (FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM) y ángulo de contacto, determinaron que las películas de PVA liberan más CO<sub>2</sub>. También que la mezcla de PVA / PVC mostró una mayor biodegradación que los otros polímeros ya que las películas en el suelo con el lixiviado presentaban sobre su superficie grietas y estructuras microbianas similares a las hifas fúngicas adheridas (Campos, Marconato & Martins, 2011).

En Perú, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, realizó el aislamiento de 6 cepas fúngicas provenientes de materiales plásticos en un relleno sanitario de Lima, entre los cuales identificaron a: *Pseudomonas sp*, *Penicillium sp*, *Rhodotorula sp*, y *Hyalodendron sp*. Luego, a escala de laboratorio para la degradación de polímeros como el poliuretano y el cloruro de polivinilo, filtraron muestras y preseleccionaron en medio de sales minerales a pH 5.5 y 7, los hongos y bacterias respectivamente. Mediante mediciones en el espectro infrarrojo, observaron la reducción del índice de carbonilo (83.89% a pH 7 y 4.08% a pH 5.5) y de terminaciones con dobles enlaces (19.77% a pH 7 y 6.47% a pH 5.5). Además, el porcentaje de peso perdido en el polímero obtenido por los hongos aislados fue de 4.8% (pH 5.5), siendo menor al de las bacterias (Uribe, Giraldo Gutiérrez & Merino, 2010).

En un artículo de investigación titulado “Biodegradation of Polyvinylchloride (PVC) by White Rot Fungi” estudiaron si los hongos de podredumbre blanca tenían la capacidad de degradar el cloruro de polivinilo recalcitrante. La metodología la realizaron con las especies *Pleurotus sp.*, *Phanerochaete chrysosporium* y *Poliporus versicolor* cultivadas a 30 °C en agar de papa. Para el procedimiento pesaron las películas antes de ubicarlas en los medios.

Los análisis fueron con FTIR (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier) y UV-VIS (espectroscopía ultravioleta visible). Posteriormente prepararon medio mínimo de sales que tenía la siguiente composición por litro de medio: 0.2 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0.5 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0.1  $\text{CaCl}_2$ ; 0.5  $\text{NH}_4\text{N}-\text{O}_3$ ; 0,1 extractos de levadura; 10 g de glucosa y agua destilada, el pH lo ajustaron a 4.5. Los cultivos de los hongos con el medio se incubaron a 30 °C y a 150 rpm. Luego de 30 días el estudio demuestra que la especie *Pleurotus* sp., mostró las tasas máximas de crecimiento. Además, analizaron las películas con espectroscopia UV-VIS determinando que el PVC con menor peso molecular y grado de la cadena es más fácilmente degradada por los hongos (Kirbas, Keskin & Guner, 1999).

Sin embargo, en 1986 en una investigación titulada “Growth characteristics of selected fungi on polyvinyl chloride film” determinaron si una película de cloruro de polivinilo seria fuente de crecimiento para 9 especies de hongos. El procedimiento lo llevaron a cabo sumergiendo en agua destilada sin nutrientes las láminas de PVC con las especies de prueba posteriormente la mezcla se incubó a 30 °C durante 18 semanas. Encontraron que solo dos especies *Aspergillus fischeri* y *Paecilomyces* sp fueron capaces de utilizar componentes de la película sin nutrientes añadidos. Después probaron si las láminas de PVC en un medio de sales minerales podrían servir como fuente de carbono en presencia de nitrato de amonio. De la investigación concluyeron que la mayoría de las especies fúngicas se adhieren a la película de PVC para obtener carbono, pero es más fácil cuando se suministra otro nutriente (Roberts & Davidson, 1986).

## 1.5.2. MARCO CONCEPTUAL

**1.5.2.1. Hongos:** son microorganismos que se componen de un micelio el cual posee hifas, son organismos unicelulares y pluricelulares heterótrofos y con organización celular eucariota. Secretan enzimas digestivas al medio que actúan degradando la materia orgánica y produciendo moléculas sencillas que son absorbidas como nutrientes a través de la pared y membrana celular (Morales, 2009).

Los hongos en el tratamiento de los suelos representan un gran potencial debido a la capacidad que tienen de transformar contaminantes orgánicos en compuestos de menor impacto en los ambientes naturales como dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (Moreno, Gonzales & Blanco, 2004).

**1.5.2.2. Aislamiento de hongos:** es el procedimiento para la selección de nuevas cepas que permitan generar el inóculo adecuado, de acuerdo a la región y al tipo de planta que se desea producir para obtener mayores beneficios sin perturbar o afectar los cultivos puros (Carreón, Treviño, Beltrán, Martínez, Trejo & Gavito, 2012).

**1.5.2.3. Medios de cultivo:** es una sustancia o solución que permite el desarrollo de microorganismos, mientras que el cultivo es el producto del crecimiento de un organismo. Los medios deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo y reproducción de los hongos (carbono, nitrógeno, vitaminas, etc.) y un pH ligeramente ácido (6 - 6.3) para facilitar su crecimiento e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos (Cañedo & Ames, 2004).

**1.5.2.4. Suelo blanco:** es una muestra que se estandariza (Sandoval, Fernández, Seguel, Becerra & Rivera, 2011) y se caracteriza por no contener ningún agente químico, ni



tratamientos esto se utiliza como referencia de cambios en otra muestra que si ha sido alterada con procesos.

**1.5.2.5. Medio mínimo de sales (MMS):** es un medio de cultivo el cual contiene los nutrientes mínimos indispensables para el crecimiento de una colonia, los cuales son una fuente de carbono y energía para el crecimiento de la colonia. Además, contiene distintas sales, que pueden variar dependiendo de los microorganismos y las condiciones de cultivo, que generalmente proporcionan elementos esenciales como el magnesio, nitrógeno, fósforo y azufre para permitir a las bacterias sintetizar proteínas y ácidos nucleicos (Jaka, Gajendiran, Chacko, & Abraham, 2016). Estos medios mínimos de sales suelen usarse cuando se prueban fuentes específicas de macronutrientes a partir de sustancias contaminantes que pueden ser por ejemplo plaguicidas, polímeros, antibióticos, etc., y en los cuáles, el medio mínimo de sales proporciona los oligoelementos necesarios y el resto de los macronutrientes que no están siendo proporcionados.

**1.5.2.6. Biodegradación:** es un proceso de degradación química llevado a cabo por agentes biológicos (bacterias y hongos). Tiene como consecuencia una reducción del grado de polimerización, así como de descomponer los polímeros en compuestos orgánicos simples (Aradilla, Oliver & Estrany, 2010).

**1.5.2.7. Cloruro de Polivinilo:** es un polímero que pertenece a los termoplásticos, se caracteriza por ser: resistente, rígido, elevada dureza mecánica, aislante eléctrico (Lascano & Narváez, 2010), inodoro, ligero, impermeable y químicamente inerte (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2016). Estas características morfológicas hacen que los plásticos se encuentren de diferentes formas en el ambiente (FAO, 2017).

A fin de conseguir mejoras en las características de comportamiento y calidad del PVC, se agregan aditivos en cantidades menores al 5% a los polímeros, por lo general se mezclan varios tipos de aditivos para mejorar cierta propiedad en el plástico. Los aditivos pueden ser, en relación a su naturaleza química, especies orgánicas como alquilfenoles, hidroxibenzofenonas, entre otros; inorgánicas como sales, óxidos entre otros u organometálicas como complejos de níquel, aceleradores de zinc, entre otros (Hernández, 2018). A continuación, según Hernández (2018), se nombran algunos tipos de aditivos comúnmente empleados y su función:

- Antioxidantes: inhibir las reacciones de termo-oxidación
- Estabilizantes a la luz: evitar el deterioro del polímero causado por la exposición a la luz UV (agrietamiento, decoloración, pérdida de brillo, transparencia y fragilidad).
- Plastificantes: aumentar la flexibilidad y la resistencia al impacto.
- Agentes nucleantes: mejorar la claridad, transparencia y propiedades mecánicas.
- Lubricantes: disminuir la viscosidad de flujo y evitar el pegado del polímero a las superficies metálicas.

**1.5.2.8. Biodegradación de los aditivos:** el uso de aditivos químicos estabilizantes es un requisito para proteger el PVC de los efectos adversos tales como: el calor, la luz, factores biológicos y atmosféricos que durante el uso de los productos deterioran las propiedades y el aspecto del material.

La pérdida de los plastificante u otros aditivos desde un material polimérico es un proceso complejo, que incluye tres procesos físicos: La difusión de los aditivos a la superficie, el transporte a través de la interfaz y la pérdida del aditivo desde la superficie hacia el medio circundante (Córdoba & Medina, 2009).

En este último es donde los hongos son capaces de romper los enlaces de algunos polímeros, acelerando así su transformación en sustancias más sencillas como dióxido de carbono, agua y biomasa. La biodegradación de un material puede ser parcial (donde se altera la estructura química y se pierden algunas propiedades físicas del material), o total, donde se produce una mineralización completa del material con la producción de moléculas más simples como agua, sales minerales, CO<sub>2</sub> en condiciones aerobias. El ataque enzimático de los microorganismos se produce por la necesidad de encontrar alimento debido a que la cadena principal de los polímeros es una fuente de carbono (Labeage, 2018).

#### **1.5.2.9. Etapas de la degradación de PVC por acción de los hongos:**

Las etapas de degradación según Dussud y Ghiglione (2014), incluyen varios pasos entre los cuales se encuentran:

- Biodeterioro: el biodeterioro es producido por la formación de la biopelícula que crece en la superficie del PVC. Se generan dos tipos de deterioro, el físico y el químico. El deterioro físico se da debido a la secreción de sustancias poliméricas extracelulares que refuerzan la cohesión de la biopelícula y la adhesión a la superficie plástica, estas ingresan en los poros provocando grietas que debilitan las propiedades físicas del plástico. El deterioro químico se puede dar cuando se liberan compuestos ácidos los cuales modifican el pH dentro de los poros, lo que resulta en una degradación progresiva que cambia la microestructura de la matriz plástica.
- Biofragmentación: los hongos secretan enzimas extracelulares, que pueden catalizar reacciones principalmente en los límites del polímero plástico. Estas enzimas rompen

los enlaces entre las moléculas, lo que le permite al hongo usar posteriormente sus micelios para seguir creciendo. Pueden realizar muchas reacciones químicas, pero generalmente necesitan un desequilibrio de la carga eléctrica.

El límite principal de la biofragmentación es la estabilidad de los polímeros plásticos, que están constituidos por una larga cadena de carbonos e hidrógenos que contiene cargas muy equilibradas. Para desestabilizar la carga eléctrica local algunas enzimas pueden agregar oxígeno a una larga cadena de carbono.

Por ende, se crea un mecanismo de radicales libres inespecífico. Cuando un electrón es agregado o removido de su estado fundamental se vuelve muy reactivo permitiéndole dar o tomar electrones de otros compuestos. Esto provee la base de la inespecificidad de las enzimas y la capacidad de degradar xenobióticos (Loredo et al, 2017). Las enzimas microbianas, como la despolimerasa, la esterasa y las lignolíticas, que escinden los polímeros en compuestos de cadena pequeña, pueden estar involucradas en la degradación del plástico (Rodríguez, Soares, Ferreira & Megumi, 2019).

En los hongos el complejo enzimático extracelular (sistema ligninolítico) contiene peroxidasas, lacasas y oxidasas que conducen a la producción de peróxido de hidrógeno extracelular, pero las características de este sistema enzimático varían según el tipo de cepa y las condiciones del cultivo (Sangale, Shahnawaz & Ade, 2012).

- Asimilación y Mineralización: por último, la formación de monómeros no garantiza la asimilación por los hongos. Primero el hongo usa portadores específicos para cruzar la pared celular. Luego dentro de las células del hongo, los monómeros plásticos se oxidan a través de vías catabólicas para producir energía, estructura celular y nueva

biomasa. Por un lado, la asimilación se refiere a la integración de átomos dentro de las células de los hongos, pero la degradación de los monómeros puede no estar completa. La asimilación da como resultado numerosos metabolitos secundarios que pueden ser transportados fuera del microorganismo que no tienen la capacidad metabólica de transformarlo o que no necesitan metabolizarlo ni almacenarlo. Los metabolitos secundarios excretados pueden ser utilizados por otra célula que pueda realizar una mayor degradación. Por otro lado, la mineralización se refiere a la degradación completa de los metabolitos primarios y secundarios que resultó en la excreción de metabolitos completamente oxidados como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{H}_2\text{O}$ .

**1.5.2.10. Biopelículas fúngicas:** es un sistema microbiano organizado, conformado por uno o varios microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, con características funcionales y estructuras complejas. La formación de biopelículas consta de tres etapas: adsorción reversible, adsorción irreversible y crecimiento.

Los microorganismos formadores de biopelículas, tienen ventajas sobre los microorganismos suspendidos, como por ejemplo una mayor persistencia dentro del sistema, mayores tasas de crecimiento, de actividad metabólica y de resistencia a la toxicidad (Pescador, 2013).

Una de las primeras fases en la formación de la biopelícula fúngica es la adhesión de las conidias al material, seguido por una fase de filamentación celular y proliferación, también se efectúan procesos de secreción de componentes extracelulares que forman la matriz constituida principalmente de carbohidratos, que sirven como soporte para las hifas que van a constituir la biopelícula, y como consecuencia de la maduración resulta de una red

micelial constituida de exopolisacaridos (Sánchez, Flores, Padilla, Barbosa & Sabanero, 2014).

#### **1.5.2.11. Determinación de crecimiento del hongo en biopelículas fúngicas:**

La tinción con Cristal Violeta se emplea para determinar la formación de biopelícula de hongos sobre superficies inertes, el procedimiento consiste en lavar con PBS el material para retirar células planctónicas, añadir etanol 96% durante 15 minutos para fijar la biopelícula, teñir la biopelícula con Cristal Violeta por 5 minutos, lavar la biopelícula con PBS nuevamente y por último retirar el exceso de colorante con ácido acético al 33% (V/V) (Fernández, 2017).

#### **1.5.2.12. Análisis Infrarrojo:**

**1.5.2.13.** Es una técnica que se utiliza para obtener un espectro infrarrojo de absorción, transmitancia, fotoconductividad o dispersión de un sólido, líquido o gas. (Dwivedi, Pandey & Ramteke, 2017).

Este emplea una fuente de luz incandescente para emitir un rayo brillante en el rango de longitud de onda IR. Este haz llega a un espejo medio, plateado, que lo divide en un 50% que se dirige hacia un espejo fijo y un 50% a un espejo móvil. La señal detectada de esta manera es proporcional a la diferencia en la trayectoria óptica de los dos haces y a la posición del espejo móvil durante el análisis. (Alawam, 2014).

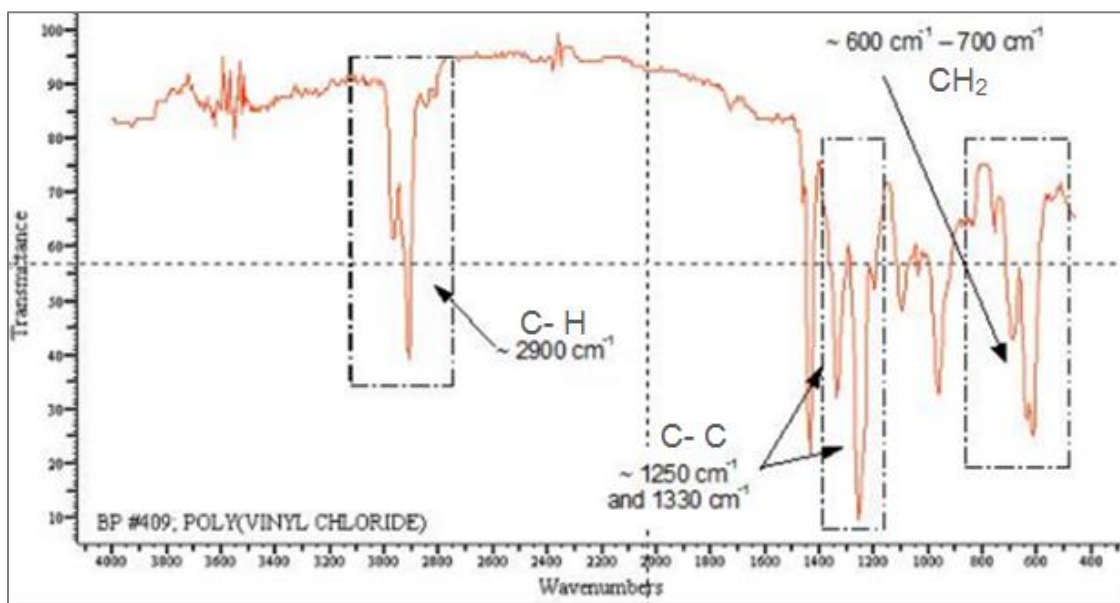
El espectro infrarrojo es un dibujo compuesto por bandas o picos, donde en el eje de las abscisas (o de las X) están representados todos los valores del intervalo de longitud de onda del infrarrojo medio, ya sea en número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) o de longitud de onda (nanómetros). Mientras que en el eje de las ordenadas (o de las Y) están representados los

valores de la intensidad de absorción o transmisión. Cada pico en un espectro de infrarrojo representa un específico tipo de vibración. Cada compuesto orgánico tiene un espectro infrarrojo específico dependiendo de su estructura molecular.

Existen en la bibliografía una gran variedad de tablas de asignación de bandas o picos con el propósito de facilitar la explicación de un espectro de infrarrojo (Mondragón, 2000). Se usa para estudiar el carácter del espectro de la muestra biodegradada asociada con la exposición a hongos (Jaka, 2016).

Para el caso del PVC, se busca realizar una comparación entre los espectros obtenidos de las muestras de lámina durante la prueba de degradación, con el espectro del material inicial, en una región entre los 4000 y 400  $\text{cm}^{-1}$  como la figura que se muestra a continuación, teniendo en cuenta las bandas de enlaces más importantes entre carbonos que puedan llegar a observar (Chart, 2016).

Figura 3. FTIR Espectro de Policloruro de Vinilo

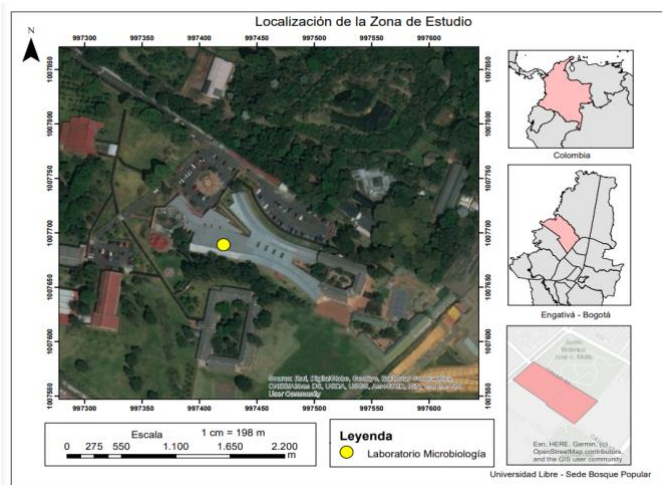


Fuente: Chart, 2016

### 1.5.3. MARCO GEOGRÁFICO

El desarrollo del proyecto se realizará en las instalaciones de la Universidad Libre, sede el Bosque, ubicada en la ciudad de Bogotá perteneciente a la localidad de Engativá como se muestra en la figura 2. Localizada en las coordenadas 4° 39' 59.4" N y 74° 6' 7.974" W (Gonzales, 2015).

Figura 4. Ubicación de la universidad



Fuente: Autores del proyecto, 2019

## 2. DESARROLLO DEL PROYECTO

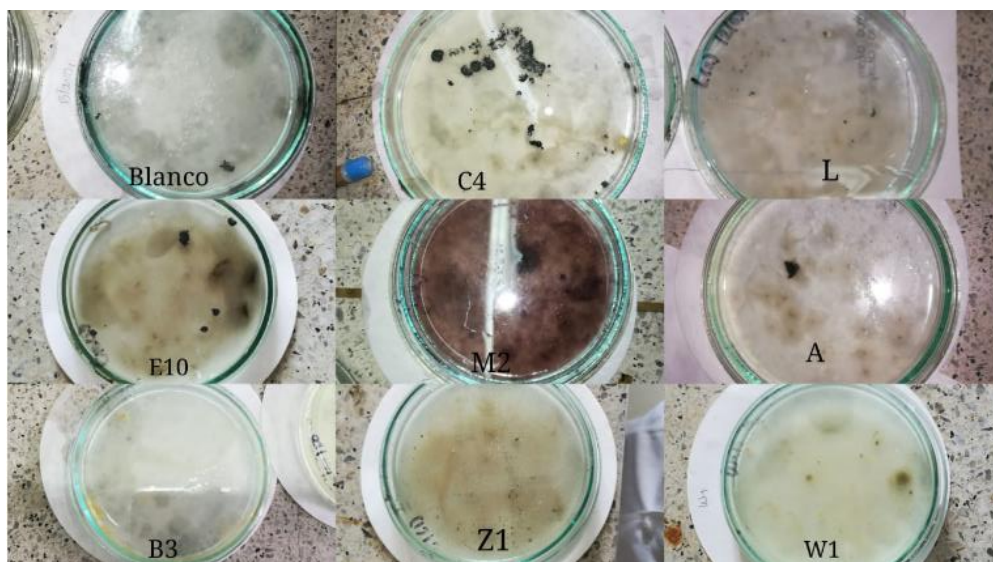
El desarrollo del proyecto comprende el diseño metodológico que se siguió para obtener los resultados que permitieron alcanzar los tres objetivos específicos planeados. Estos resultados se presentan a continuación:

### 2.1. Estudio de la formación de biopelículas de los hongos en una resina de PVC sin plastificante.

En la figura 5 se observa el crecimiento de los hongos en la prueba preliminar luego de 6 meses.



Figura 5. Cajas Petri pruebas preliminares



Fuente: Autores del proyecto, 2020

De la prueba preliminar se obtuvo la masa ganada en la lámina de PVC la cual es atribuida a la biopelícula de hongo adherida a la lámina, esta masa también fue expresada en términos de % de masa de biopelícula. Estos resultados se muestran en la tabla 3:

Tabla 3. Datos de pruebas preliminares

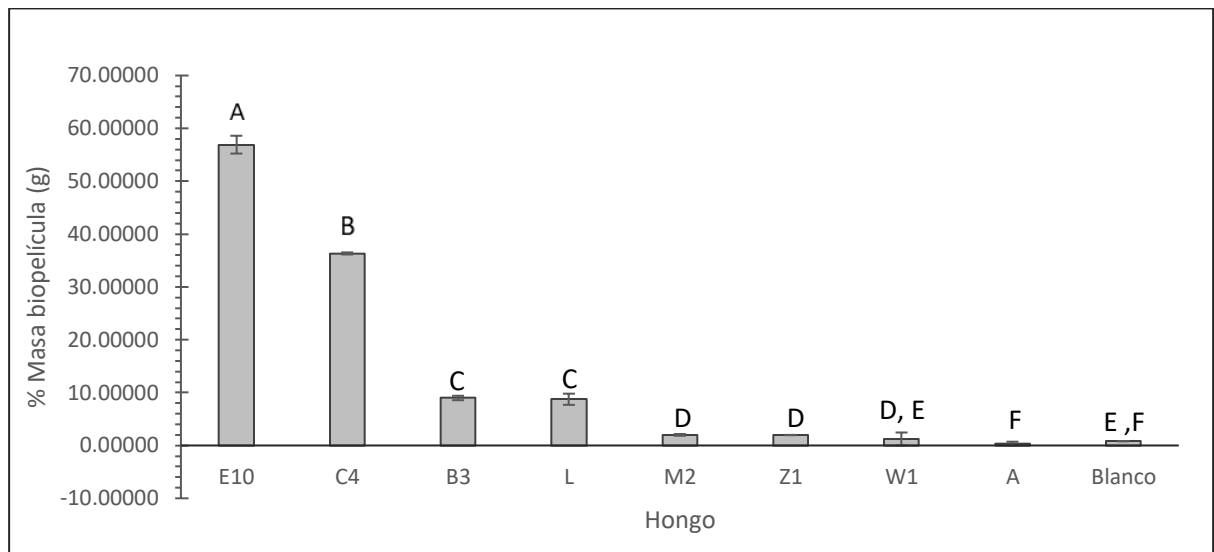
Hongo	Promedio de masa biopelícula (g)	Promedio % Masa de biopelícula	Desviación estándar % masa biopelículas
L	0,01352	8,74	1,06
C4	0,05617	36,3	0,197
M2	0,00307	1,98	0,169
A	0,00055	0,354	0,358
Z1	0,00305	1,97	0,0281
E10	0,08797	56,9	1,69
B3	0,01389	8,98	0,419
W1	0,00190	1,23	1,22
Blanco	0,00130	0,809	0,0154

Fuente: Autores del proyecto, 2020

Los datos de la tabla 3 fueron obtenidos de dos cajas de Petri con 4 películas de PVC, cada una, para cada especie fúngica. En la figura 6 se graficaron los porcentajes de biopelícula

formada para cada aislamiento probado. Para estos resultados se realizó una prueba estadística t-Student LSD, donde los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos:

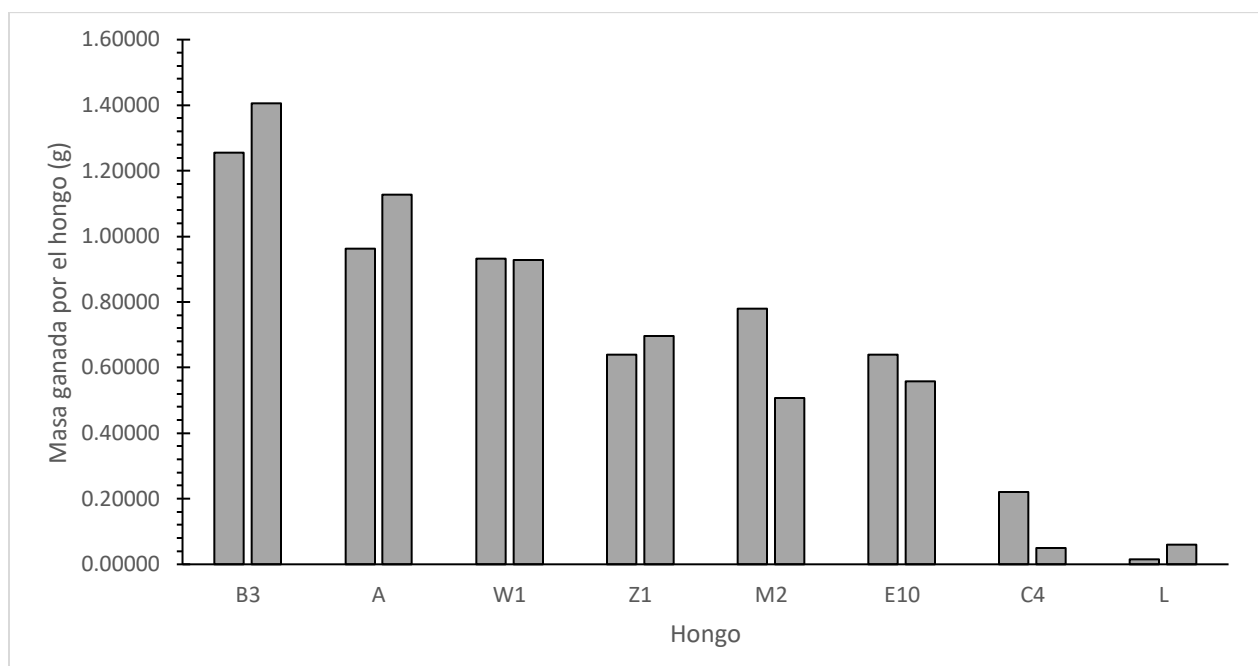
Figura 6. % de Masa de biopelícula adherida a la lámina de PVC en las pruebas preliminares



Las barras de error mostradas corresponden a barras de dispersión.  
Fuente: Autores del proyecto, 2020.

Debido a que en los medios de cultivo semisólido de las pruebas preliminares se observó un crecimiento evidente de los hongos probados, se obtuvieron las masas de los hongos crecidos en estos medios de cultivo, las cuales se muestran en la figura 7 para cada medio filtrado por aislamiento. En esta figura no se incluye el blanco, ya que, la masa de este se le restó a la masa obtenida de los aislamientos, para descontar el agar filtrado y obtener únicamente el dato de las masas del hongo en los duplicados.

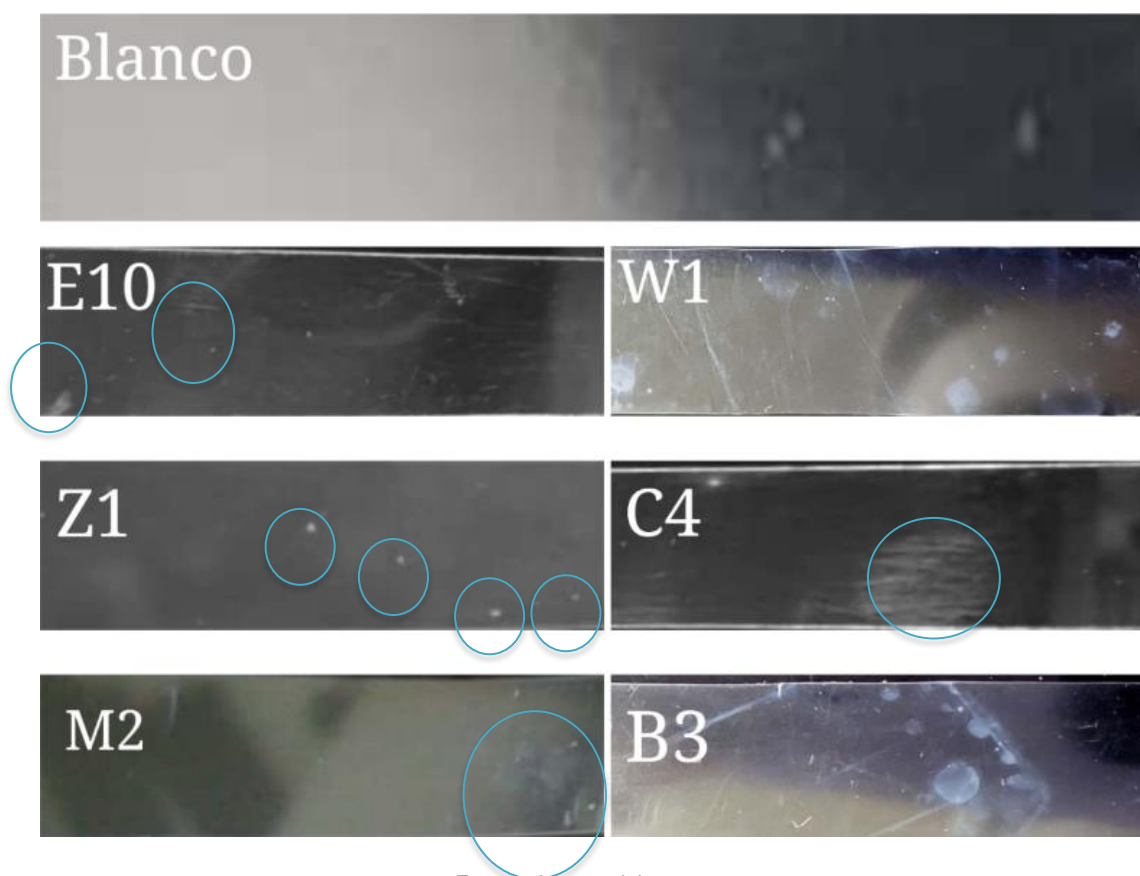
Figura 7. Masa ganada por hongo plantónico en las pruebas preliminares



Fuente: Autores del proyecto, 2020.

Por otro lado, en la figura 8 se muestran los cambios cualitativos en las láminas de PVC después de la prueba preliminar y lavado con etanol.

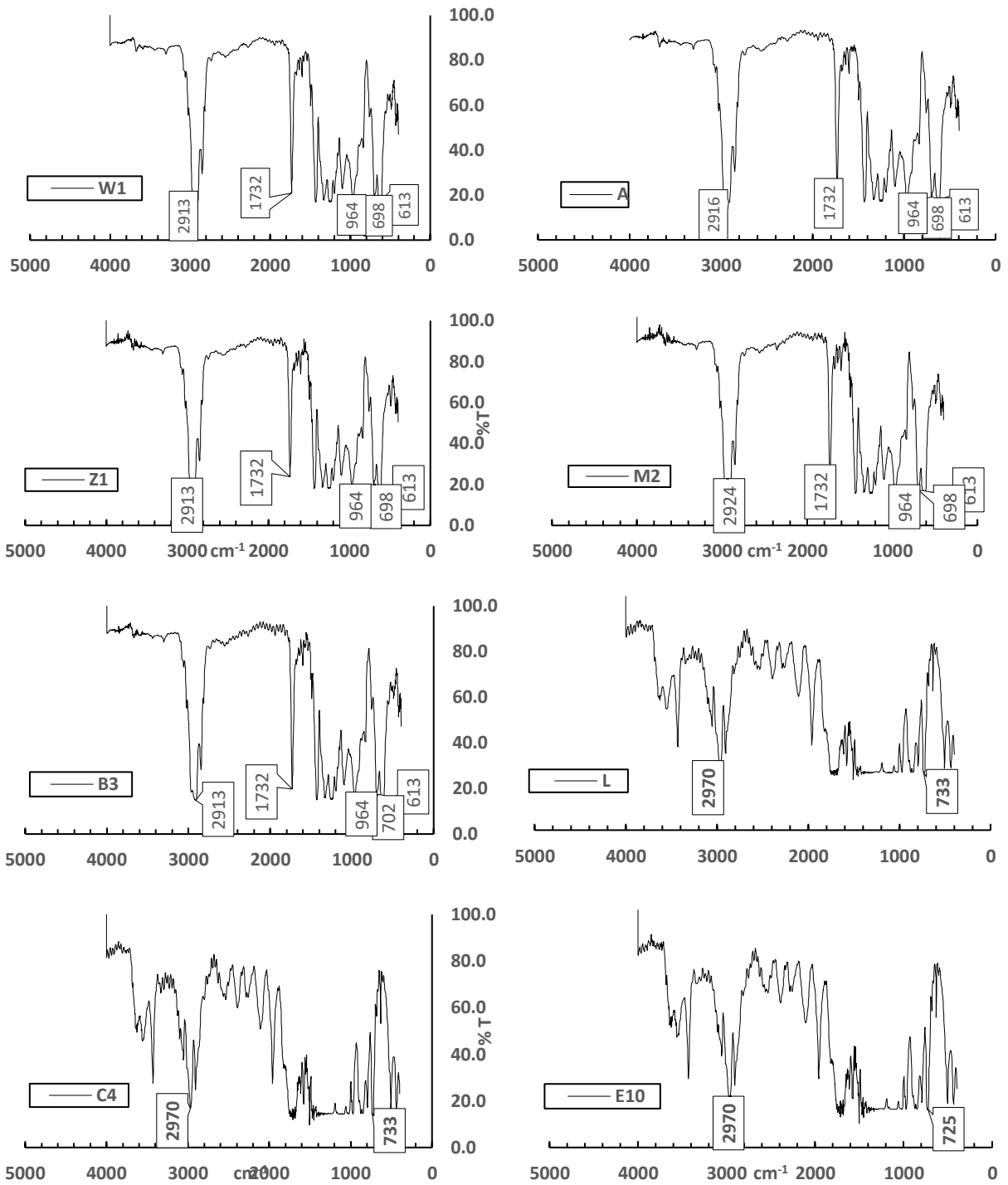
Figura 8. Láminas de PVC recuperadas



Fuente: Autores del proyecto, 2020

Además, se midieron los espectros FTIR (figura 9) de cada una de las láminas de PVC recuperadas en las pruebas preliminares con los hongos, debido a que los espectros entre cajas del mismo aislamiento eran muy parecidos, sólo se muestra uno por hongo:

Figura 9. FTIR Laminas correspondientes a los aislamientos en prueba preliminar



Fuente: Autores del proyecto, 2020

En la Tabla 4 se resumen las asignaciones de las bandas de los espectros de infrarrojo para el PVC.

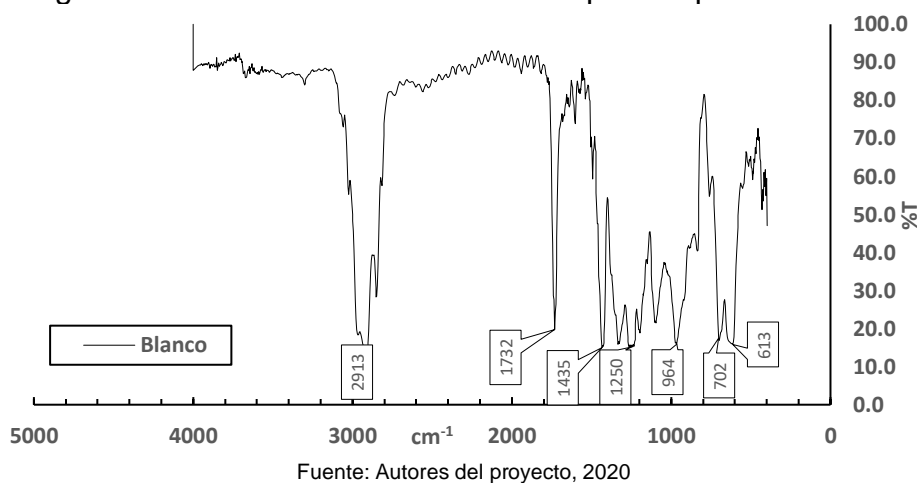
Tabla 4. Asignación de las bandas de transmitancia observados en los espectrogramas de FTIR

(cm <sup>-1</sup> )	Atribución
2970	Tensión de estiramientos CH de CHCL
2930 - 1912	Tensión de estiramientos CH de CH2
1428	Deformación CH2
1097	Estiramiento C-C
960	Meneo CH2
689, 636 y 618	Estiramiento C-Cl

Fuente: Viannis, 2008

Por último, se midió el espectro FTIR de las películas de PVC en los blancos para hacer la comparación. A continuación, se muestra el espectro obtenido para una de estas películas en la figura 10:


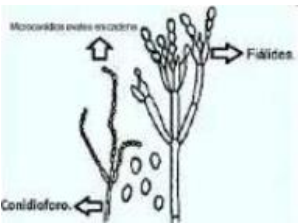

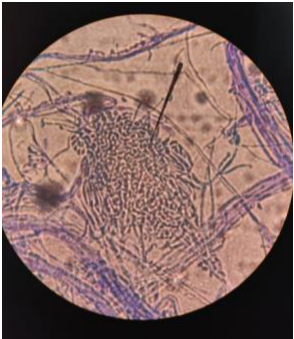


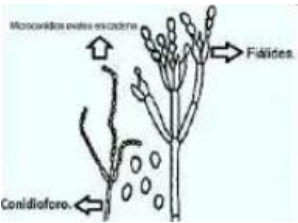

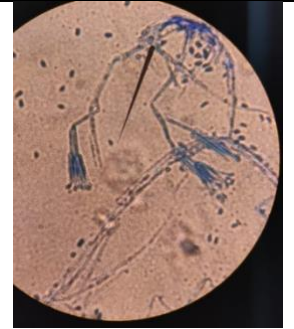

Figura 10. FTIR lámina PVC blanco en prueba preliminar




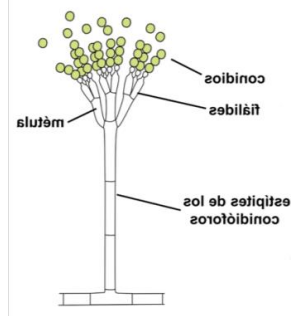




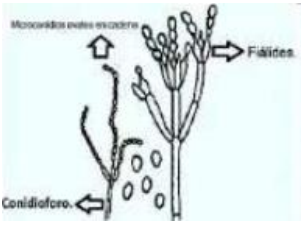

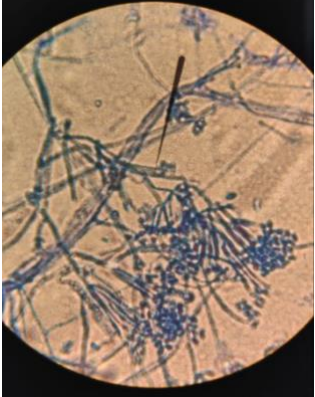

## 2.2. Clasificar morfológicamente las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.

Para los 8 hongos evaluados en las pruebas preliminares se hizo la caracterización microscópica y macroscópica basada en la comparación con las claves de Domsch & Gams (Domsch & Gams, 1980).


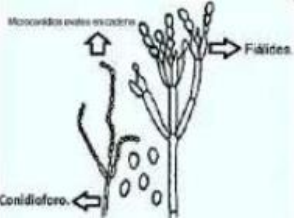


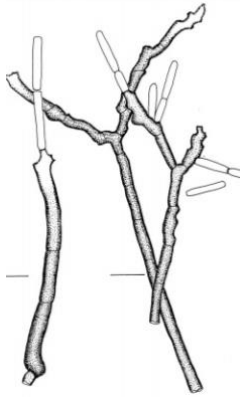

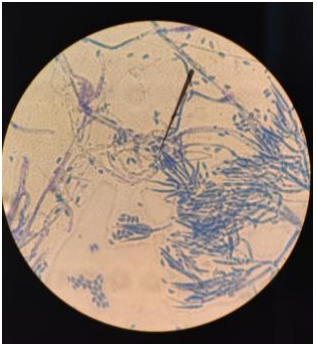
Tabla 5. Clasificación microscópica y macroscópica de los hongos


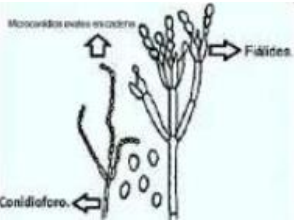

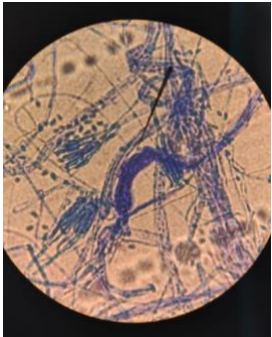


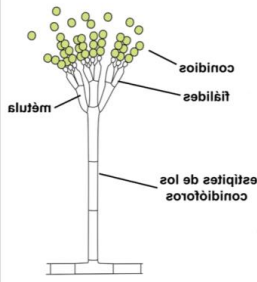


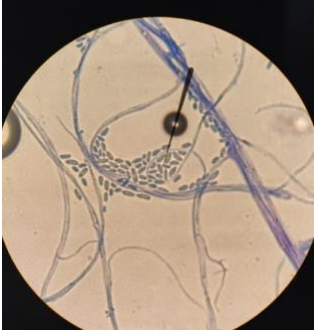
Nombre Asignado	Claves Domsh & Gams	Macroscópica	Microscopía
M2	<p><i>Paecilomyces</i> sp.</p>  	 <p><u>Velocidad de crecimiento:</u> moderado</p> <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular irregular, elevada.</p> <p><u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco y amarillo</p> <p><u>Textura:</u> vellosa</p> <p><u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	 
W1	<p><i>Paecilomyces</i> sp.</p>  	 <p><u>Velocidad de crecimiento:</u> moderado</p> <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular irregular, elevada.</p> <p><u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco</p> <p><u>Textura:</u> vellosa</p> <p><u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	 



<p><b>Z1</b></p>	<p><i>Penicillium</i> sp.</p>  	 <p><u>Velocidad de crecimiento:</u> moderado</p> <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular</p> <p><u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco y amarillo</p> <p><u>Textura:</u> algodonosa</p> <p><u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	 
<p><b>C4</b></p>	<p><i>Paecilomyces</i> sp.</p>  	 <p><u>Velocidad de crecimiento:</u> moderado</p> <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular irregular, elevada.</p> <p><u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco</p> <p><u>Textura:</u> vellosa</p> <p><u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	 



<p><b>B3</b></p>	<p><i>Paecilomyces</i> sp.</p>  	 <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular irregular, elevada. <u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco <u>Textura:</u> vellosa <u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	
<p><b>E10</b></p>	<p><i>Sympodiella</i> sp.</p> 	 <p><u>Topografía de la colonia:</u> irregular, elevada. <u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> rojizo con café y marrón pálido <u>Textura:</u> vellosa <u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	

<p>L</p>	<p><i>Paecilomyces</i> sp.</p>  	 <p><u>Velocidad de crecimiento:</u> moderado</p> <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular irregular, elevada.</p> <p><u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco</p> <p><u>Textura:</u> vellosa</p> <p><u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	 
<p>A</p>	<p><i>Penicillium</i> sp.</p>  	 <p><u>Velocidad de crecimiento:</u> moderado</p> <p><u>Topografía de la colonia:</u> circular irregular, elevada.</p> <p><u>Pigmentación en anverso y reverso:</u> blanco</p> <p><u>Textura:</u> algodonosa</p> <p><u>Tamaño:</u> crecimiento limitado.</p>	 

Fuente: Autores del proyecto, 2020

### 2.3. Probar los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.

De la prueba en suelo se obtuvieron los datos de la masa ganada en las cuatro películas de PVC probadas por cada hongo, esta masa es atribuida a la biopelícula de hongo en la lámina de PVC. Estos resultados se muestran en la tabla 6, junto con los resultados calculados del % de masa de biopelícula formada.

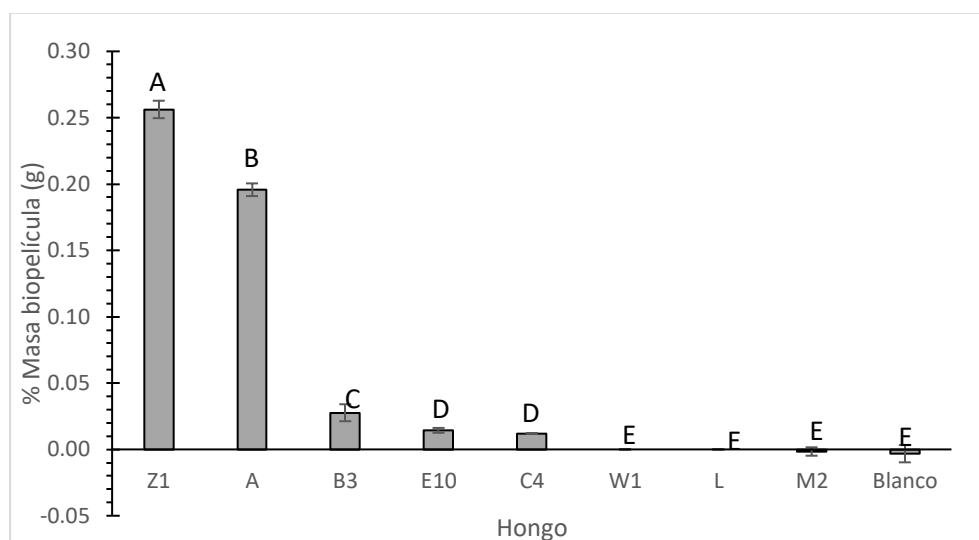
Tabla 6. Masa ganada por la biopelícula en la prueba en suelo.

Hongo	Masa biopelícula	% Masa Biopelícula	Desviación estándar % masa biopelículas
Z1	0,00019	0,26	0,00658
A	0,00015	0,20	0,00480
E10	0,00005	0,014	0,00184
B3	0,00002	0,03	0,00638
C4	0,00001	0,01	0,00003
W1	0,00000	0,00	0,00000
L	0,00000	0,00	0,00000
M2	0,00000	0,00	0,00317
Blanco	0,00000	0,00	0,00649

Fuente: Autores del proyecto, 2020

En la figura 11 se muestra la cantidad de biopelícula que creció en las láminas de PVC, también se realizó una prueba estadística T-Student LSD, donde se establece que los valores conectados por distintas letras son significativamente diferentes.

Figura 11. % de Masa ganada por la biopelícula

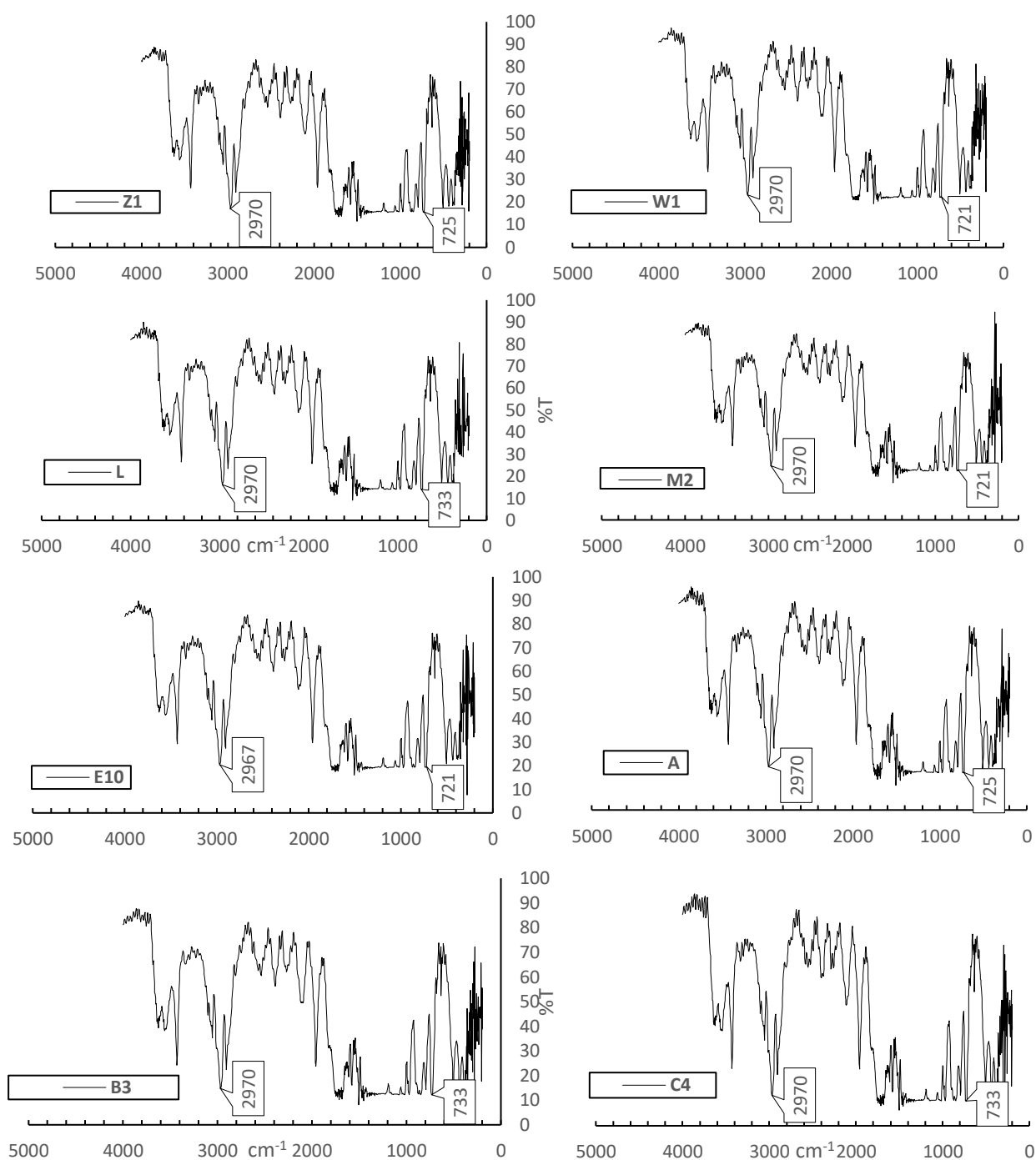


Las barras de error mostradas corresponden a barras de dispersión.

Fuente: Autores del proyecto, 2020

También se obtuvieron los espectros infrarrojos de cada una de las películas de PVC sometidas a la acción de los aislamientos, de los que sólo se muestra una imagen porque los espectros obtenidos para láminas de un mismo aislamiento eran muy similares, como se observa en la figura 12:

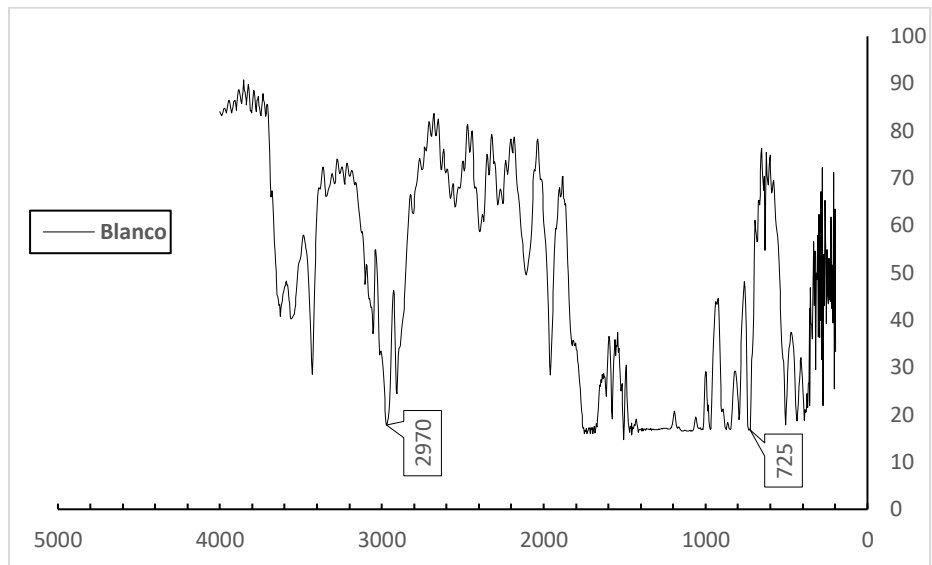
Figura 12. FTIR láminas de PVC en el suelo



Fuente: Autores del proyecto, 2020

En la figura 13 se muestra el espectro FTIR para una de las láminas en el blanco de PVC:

Figura 13. FTIR Lámina Blanco de PVC en el suelo



Fuente: Autores del proyecto, 2020

### **3. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

A continuación, se muestra el análisis de los resultados del capítulo anterior correspondientes a los tres objetivos específicos.

#### **3.1. Estudiar la formación de biopelículas de los hongos estudiados en una resina de PVC sin plastificante.**

En la figura 6 y 7 se muestra el % de masa de biopelícula ganado por los hongos en las láminas de PVC y las masas ganadas por el hongo respectivamente, se logra evidenciar que en la mayoría de los casos el crecimiento del hongo en la caja de Petri no es directamente proporcional a la masa de biopelícula adherida a la película de PVC. Por ejemplo, E10 y C4 fueron los aislamientos en los que las 8 películas de PVC obtuvieron mayor masa ganada entre un 36% y 56% de su masa inicial, pero están entre los que menor crecimiento se evidenció en la caja de Petri. También, los hongos A y W1 crecieron en mayor proporción en la caja Petri en comparación con los demás, pero las películas de PVC fueron las que menos masa ganaron, entre 0 y 1.2%. B3 fue el hongo que más creció y la masa de biopelícula adherida a la lámina de PVC aumento en un 9%, en comparación con E10 y C4 sigue siendo un porcentaje bajo. Este resultado se asemeja a un estudio realizado por Viví, Martins, y Attili, (2019), donde se buscó degradar láminas de PVC en cajas de Petri por acción de hongos, se encontró que el crecimiento de hongos pigmentó el agar en su totalidad en las cajas de Petri; sin embargo, el crecimiento filamentoso en la superficie de las películas mostró ser débil y restringido.

Se observó que los ocho aislamientos fúngicos crecieron en toda el área de la caja Petri, es decir, aumentó la colonia en el MMS durante los 6 meses de incubación (figura 5). Al

medir la masa del hongo se determinó que B3, A y W1 fueron los que obtuvieron una mayor masa en comparación con los demás.

En un estudio realizado por Roberts y Davidson (1986), se estudió la variación en el crecimiento de 8 hongos al cambiar el sustrato para determinar la capacidad de los hongos para utilizar los componentes de una película de PVC como posibles fuentes de carbono, los aislamientos presentaron un mejor crecimiento cuando se adicionaba glucosa, por lo que uno de los factores que pudo haber influido positivamente en el crecimiento de algunos aislamientos pudo haber sido la adición de glucosa en el medio, sin embargo las fuerzas de Van der Waals pudieron haber afectado el asentamiento de la biopelícula, por ello en algunos casos aunque el hongo creció satisfactoriamente no se adhirió a la película de PVC. Sin embargo, sí se evidenció formación de biopelícula de hongo en las películas de PVC (figura 6), sobre todo en los aislamientos E10, C4 y B3, este crecimiento se atribuye a que el PVC presenta macromoléculas que liberan cloruro de hidrogeno (HCl), lo cual actúa sobre los enlaces dipolo-dipolo y las fuerzas de Van der Waals, haciendo más flexible la estructura de la cadena y reduciendo la rigidez del polímero (Grisa, Simioni, Cardoso, Zeni, Brandalise & Zopas, 2011). Jones establece que los enlaces de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas pueden contrarrestar tales fuerzas de repulsión electrostática, favoreciendo así la adhesión microbiana (Jones, 1994).

#### *Espectro IR de las películas de PVC*

En los espectros FTIR que se muestran en la figura 9, se evidencian tensiones en regiones comunes del espectro de los aislamientos los cuales son dos picos a 2970 y 2930  $\text{cm}^{-1}$  aproximadamente los cuales corresponden a los modos de estiramientos de los enlaces C-H, de los grupos Cl-C-H, y  $\text{CH}_2$  respectivamente (Viannis, 2019).



Los aislamientos W1, A, Z1, M2 y B3 presentan una estructura similar al blanco de PVC (figura 9), estos poseen un pico intenso en  $1732\text{ cm}^{-1}$  y  $1632\text{ cm}^{-1}$  que se puede atribuir a modo de estiramiento de enlaces C=C (Sakhalkar & Mishra, 2013). En  $1428\text{ cm}^{-1}$  se evidencia un pico que corresponde a la deformación del  $\text{CH}_2$ . En  $1330$  y  $1250\text{ cm}^{-1}$  se ven dos picos pequeños los cuales se atribuyen a la deformación de  $\text{CHCl}$ . También se evidencia otro pico el cual se debe al meneo de  $\text{CH}_2$  en  $964\text{ cm}^{-1}$ . Por último, se muestran dos picos evidentes en  $610$  y  $640\text{ cm}^{-1}$  los cuales corresponden al estiramiento C-Cl (Viannis, 2019).

En los aislamientos restantes L, C4 y E10, por un lado, se da la aparición de nuevos picos de  $1900\text{ cm}^{-1}$  a  $2600\text{ cm}^{-1}$  y la disminución de la intensidad en otros de  $800\text{ cm}^{-1}$  a  $1400\text{ cm}^{-1}$ , por lo que se evidencia con menor intensidad el estiramiento C-C y la deformación C-H de  $\text{CHCl}$  (Muhammad, Qaiser, Imran, Raja, Saadia, Naima, Pir, Safia & Abdul, 2009). Lo anterior demuestra el cambio estructural en las láminas de PVC la cuales son la fuente de carbono lo que se traduce como evidencia de la biodegradación (Loredo, Arguello, Herrera, Sanchez, Escamilla & Aguilar, 2017). Por otro lado, se muestra un pico en aproximadamente en  $720\text{ cm}^{-1}$  el cual se puede atribuir al estiramiento C-Cl, ya que en el blanco este se sitúa en  $613\text{ cm}^{-1}$  (Sumathi, Viswanath, Lakshimi & SaiGopal, 2016).

#### *Cambios cualitativos en las biopelículas*

En las láminas de PVC, figura 8, se evidencian cambios de color o manchas y rayones siendo un indicio de que los hongos estaban degradando o colonizando la superficie de la película de PVC. Las láminas de PVC correspondientes a los hongos B3 y W1 fueron las que presentaron mayor afectación a la superficie del material en comparación con la lámina sin inocular, esto es característico de la adhesión microbiana por la presencia de esporas e

hifas. Este resultado es similar al estudio de Fakhrul Hassan et al., (2014). En este estudio, además se observaron cambios en el color en las láminas de PVC tratada con *P. chrysosporium*, informaron que el crecimiento de hongos en la superficie del polímero podría provocar la decoloración de las muestras de PVC debido a la actividad fúngica.

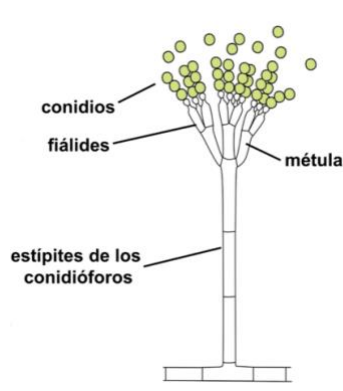
En trabajos previos se ha demostrado que una vez los hongos alcanzan la etapa de fragmentar las moléculas y metabolizar la superficie del polímero aparecen daños en la superficie del material, puesto que los hongos liberan ácidos orgánicos como metabolitos agresivos y esterasas, que crecen profundamente en el área afectada (Vivi, Martins & Attili, 2019). Sin embargo, en algunos estudios no se han descubierto microorganismos capaces de degradar el PVC tanto como los plastificantes. Por lo anterior se desconocen las enzimas claves que están involucradas en la degradación del PVC (Jiakang, Yixin & Yang, 2020).

### **3.2. Clasificar morfológicamente las especies con mayor eficiencia de degradación para resinas de PVC.**

Los aislamientos A y Z1 fueron identificados como *Penicillium* sp., el cual es un hongo filamentoso hialino, saprófito perteneciente al filo Ascomycota (Romero, 2017).

Microscópicamente presenta hifas septadas. Los conidióforos tienen ramas secundarias, denominada métula. Estas son de forma cilíndrica, con paredes lisas y portan de 3 a 6 fiálides en forma de matraz; de las cuales surgen largas cadenas sin ramificar de esporas o conidios formando el penacho o pincel característico del género.

Figura 14. Microscopia *penicillium* sp.



Fuente: Romero, 2017

Macroscópicamente su topografía es de forma circular irregular, poseen una elevación limitada, de color blanco en anverso y algunos con color amarillo claro en reverso, su textura es vellosa para algunos casos ya que en otros es algodonosa, y su velocidad de crecimiento es moderada ya que tardan entre 2 y 3 semana en ocupar 2/3 partes de la caja Petri.

M2, W1, C4, B3, y L en su mayoría son *paecilomyces* sp., debido a que poseen unas fiálides alargadas en comparación con los demás y los conidios son ovalados y no circulares. Tiende a inclinarse lejos del conidióforo con una mayor curvatura que el *penicillium* sp (Funica, 2009).

Figura 15. Microscopía *paecilomyces* sp.



Fuente: Funica, 2009

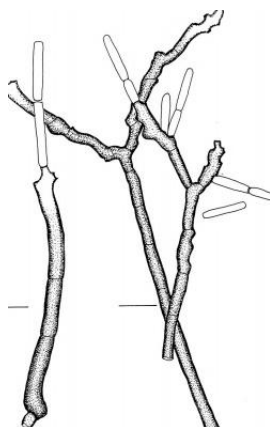
Macroscópicamente su topografía es de forma circular irregular, poseen una elevación

limitada, de color blanco en anverso, su textura es vellosa, y su velocidad de crecimiento es moderada ya que tardan entre 2 y 3 semanas en ocupar 2/3 partes de la caja Petri.

Además, los estándares internacionales sugieren el empleo de hongos prometedores para la degradación de sustratos con moléculas grandes como el plástico, algunos géneros de hongos filamentosos son: *Aspergillus* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp, y *Phanerochaete* sp. (Vivi, Martins & Attili, 2017). En un estudio realizado por Roberts y Davidson (1986), en el que se buscaba degradar unas láminas de PVC, se logró demostrar que *Paecilomyces* sp. en presencia de glucosa y medio logró crecer en la película de PVC luego de 12 semanas de incubación a 30°C. A demás, el mismo estudio realizó una prueba del crecimiento de diversas especies de hongo en una película de PVC sin MMS, de los cuales *fischeri* y *Paecilomyces* sp., fueron los únicos que lograron crecer en la película de PVC.

Por último, en la figura 16 se muestra la microscopia de *Sympodiella* sp., asignada al aislamiento E10 en la presente investigación. E10 en la caja de Petri tiende a tener un color entre rojo oscuro a café oscuro, tal atributo es característico de *Sympodiella* sp., ya que posee colonias con textura Velloso de color marrón pálido a marrón con un micelio parcialmente superficial. Además, posee conidióforos aislados, frecuentemente flexuosos y ramificados (Minter, 2007).

*Figura 16. Microscopía sympodiella sp.*



Fuente: Rambelli, Venturella & Ciccarone, 2009

### **3.3. Probar los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo.**

#### *Medición de la formación de biopelículas fúngicas en las láminas de PVC*

La mayor masa ganada por las películas de PVC recuperadas de todos los hongos probados fue de 0,00019 g. Se calculó el porcentaje de masa ganado por cada uno de los aislamientos, pero ninguno aumento su masa en al menos un 1 %. Esto coincide con un estudio llamado “Biodegradation of plasticized polyvinyl chloride containing cellulose” de Kaczmarek & Bajer (2007), en el que la variación de la masa de las películas de PVC luego de estar por seis meses en suelo y con un inóculo de hongos fue de 1% aproximadamente, debido a la reticulación parcial que tiene lugar durante la degradación, lo que impide el acceso de agua que transporta algunas enzimas.

También en un estudio realizado a unas películas de PVC tratadas con microorganismos del suelo y lodos no informaron ninguna pérdida de masa significativa, haciendo referencia a que esos valores obtenidos en la investigación para la degradación pueden ser mayores si se aumenta la porosidad, la hidrofobicidad del polímero y el tiempo de incubación del tratamiento (Campos, 2008).

### *Espectro IR de las películas de PVC en la prueba en suelo*

Los picos comprendidos entre los  $2900\text{ cm}^{-1}$  a  $3200\text{ cm}^{-1}$ , evidenciados en todos los espectros de las láminas de PVC recuperadas del suelo, corresponden a el enlace carbono e hidrogeno (C-H) el cual es la principal fuente de alimento para el hongo, pero se pudo observar que la intensidad era similar a la banda normal del espectro IR de PVC. Por otra parte, en la zona de  $1250\text{ cm}^{-1}$  a  $1330\text{ cm}^{-1}$  se atribuyó al pico de estiramiento C-C. Por otro lado, se muestra un pico en aproximadamente  $720\text{ cm}^{-1}$  el cual se puede atribuir al estiramiento C-Cl (Viannis, 2019). Los espectros de las láminas de PVC inoculadas con hongo son iguales al espectro del blanco de PVC, no hay un cambio estructural significativo en las láminas de PVC, esto se atribuye a que el suelo solo estuvo 3 semanas, tiempo que no fue suficiente para ver cambios notorios.

### *Cambios cualitativos en las biopelículas*

Por último, las películas de PVC luego de ser recuperadas no presentaron cambios cualitativos como manchas o rayones que indicaran la adherencia del hongo a la biopelícula.

## CONCLUSIONES

Se comparó la capacidad de degradación de PVC en 8 aislamientos fúngicos obtenidos de hongo aislados de suelo contaminado con reina de este material, encontrando que los mejores resultados los obtuvo el hongo clasificado morfológicamente en el género *Paecilomyces* sp.

Se estudió la formación de biopelículas adheridas a las láminas de PVC en ocho aislamientos fúngicos en pruebas preliminares, encontrando que los aislamientos identificados como C4, L, E10, M2, A, B3, Z1, W1 desarrollaron biopelículas en las láminas. De estos el que mejor resultado se obtuvo fue E10 pues su lámina de PVC presentó el mayor aumento en masa, la cual es atribuida a la biopelícula de hongo, mostrando una diferencia significativa con los otros que se probaron. Por último, se observó que el crecimiento del hongo en la caja de Petri no es proporcional a la cantidad de biomasa de hongo adherida a la lámina de PVC.

Se clasificaron morfológicamente los aislamientos que mostraron mejores resultados de degradación de PVC en las pruebas preliminares, encontrando que pertenecían a los géneros *Sympodiella* sp., *Penicillium* sp y *Paecilomyces* sp., las cepas presentaron colonias con anverso de color blanco y amarillo, a excepción de E10 y M que tendían a tener un color de rojizo a marrón, todos poseían una textura algodonosa con abundante micelio, bordes definidos y un crecimiento micelar radial, casi circular, en los medios PDA y extracto de malta a temperatura ambiente.

Se probaron los hongos con mayor desarrollo de biopelículas en un ensayo en suelo que duro aproximadamente 3 semanas y del que no se obtuvieron buenos resultados, pues no se encontró un gran crecimiento de los hongos en las películas de PVC, ni

diferencias apreciables en los espectros IR y observación macroscópica de las láminas de PVC iniciales y finales. Sin embargo, debido a que esta prueba se hizo sólo por tres semanas y se evidenció un pequeño crecimiento en algunas de los aislamientos estudiados, esto podría indicar el inicio de la formación y el establecimiento de la biopelícula sobre la lámina de PVC, por lo que se requiere un estudio posterior con tiempos mucho mayores de incubación.



## **RECOMENDACIONES**

Durante el desarrollo de este proyecto se evidenció la carencia de información acerca del mecanismo en que los microorganismos, más específicamente los hongos, degrada al PVC, se recomienda hacer investigación en dicho campo, ya que, no ha sido muy estudiado.

Además, es importante el tiempo de degradación, ya que, en la prueba en suelo este fue de tres semanas, relativamente corto, y/o la cantidad del inóculo no fue suficiente. Por un lado, en un estudio llamado “Isolation and molecular characterization of polyvinyl chloride (PVC) plastic degrading fungal isolates” por Ali, Ahmed, Robson, Javed, Imran, Naeem, Hamee y Abdul, la película de PVC cambió en algunas partes de blanco a marrón luego de 10 meses de degradación por el hongo. Por otro lado, según los resultados obtenidos en el presente estudio, la degradación se inicia en el transcurso de 6 meses aproximadamente, por lo que, se puede esperar una mayor biodegradación prolongada al pasar los 6 meses con inóculo en suelo.

Por último, los procesos de biodegradación del PVC siguen siendo controvertidos por la posible formación de productos de degradación que contienen cloro, que no son neutros para el medio ambiente (Kaczmarek & Bajer, 2007). Por tanto, es necesario plantear qué va a pasar con dichos materiales de desecho producto de la degradación.

## **REFERENTES BIBLIOGRÁFICAS**

- Alawam, K. (2014). Application of Proteomics in Diagnosis of ADHD, Schizophrenia, Major Depression and Suicidal Behavior. *Proteomics in Biomedicine and Pharmacology* (1st ed., Vol. 95). Elsevier Inc. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800453-1.00009-9>
- Aradilla, D., Oliver, R & Estrany, F. (2010). Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. Recuperado de: <http://www.tecnicaindustrial.es/tiadmin/numeros/82/889/a889.pdf>
- Aradilla, Z., Francesc, E & Ramón, O. (2007). Degradación de residuos de materiales plásticos. 448, pág. 186-190.
- Bo-Yu Peng, Zhibin Chen, Jiabin Chen, Huarong Yu, Xuefei Zhou, Craig S, Wei-Min Wu & Yalei Zhang. (2020). Biodegradación de cloruro de polivinilo (PVC) en larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Medio Ambiente Internacional* Volumen 145, diciembre de 2020, 106106. Recuperado de : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412020320614>
- Campos, A. (2008). Degradation of polymer blends by soil microorganism and slurry. Institute of Biological Sciences UNESP, Brasil.
- Campos, A., Marconato, J & Martins, S. (2011). Biodegradation of blend films PVA/PVC, PVA/PCL in soil and soil with landfill leachate. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(6), 1367-1378.
- Cañedo, V & Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos Entomopatógenos. Perú. Recuperado de: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>

- Carreón, Y., Treviño, E., Beltrán, M., Martínez, M., Trejo, D & Gavito, M. (2012). Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotróf. Revista Mexicana de Micología. Vol. 37. Recuperado de: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802013000100005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802013000100005)
- Ceresana, 2014. Additives for Polymers. additives for Polymers, Volume 2014, Issue 11, 2014, Pages 10-11, ISSN 0306-3747, [https://doi.org/10.1016/S0306-3747\(14\)70175-7](https://doi.org/10.1016/S0306-3747(14)70175-7). Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306374714701757?via%3Dihub>
- Chih-Cheng Tang, Huey-Ing Chen, Peter Brimblecombe, Chon-Lin Lee. (2018) Textural, surface and chemical properties of polyvinyl chloride particles degraded in a simulated environment, Marine Pollution Bulletin, Volume 133, 2018, Pages 392-401.
- Córdoba, A & Medina, J. (2009). Optimización de formulaciones de PVC flexible: Sistema plastificante DOP- ESBO. Recuperado de: <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/MAY09/cordoba.pdf>
- Cromakit. (2015). Azul de lactofenol para la tinción de estructuras fúngicas. Química Clínica Aplicada. S. A. 34(977), 43870. Recuperado de: <http://www.cromakit.es/pdfs/inserts/994970.pdf>
- Domsch, K. Gams, W. & Anderson, T. (1980) Compendium of soil fungi, Vol. 1, Academic Press London Ltd. Londres, Reino Unido

- Dussud Claire & Jean-François Ghiglione (2014). La degradación de plásticos en el mar. Sfecoloige. Recuperado de: <https://www.sfecologie.org/regard/r63-plastiques-en-mer-dussud-et-ghiglione/>
- Dwivedi, C., Pandey, I., Pandey, H & Ramteke, P. W. (2017). Electrospun Nanofibrous Scaffold as a Potential Carrier of Antimicrobial Therapeutics for Diabetic Wound Healing and Tissue Regeneration. Nano- and Microscale Drug Delivery Systems. Elsevier Inc.
- Estrada, G & Ramirez, M. (2019). Micología General. Universidad Católica de Manizales. Recuperado de : [http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia\\_general.pdf](http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia_general.pdf)
- Expertos en Gestión de Residuos. (2018). Gestión de rellenos sanitarios en América Latina. Recuperado de: <https://www.ceddet.org/wp-content/uploads/2018/02/RESIDUOS-003.pdf>
- Fakhrul H., Fazal A., Farooq R., Sohaib R., Abdul G & Muhammad S. (2014). Assessment of biodegradability of PVC containing cellulose by white rot fungus. Recuperado de: [https://www.academia.edu/24093028/Assessment\\_of\\_biodegradability\\_of\\_PVC\\_containing\\_cellulose\\_by\\_white\\_rot\\_fungus](https://www.academia.edu/24093028/Assessment_of_biodegradability_of_PVC_containing_cellulose_by_white_rot_fungus)
- FAO. (2017). Los microplásticos en los sectores de pesca y acuicultura. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/ca3540es/ca3540es.pdf>
- FAO. (2019). Reducir nuestra dependencia del plástico. Recuperado de: <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1197070/>

- Fernández, M. (2017). Estudio de la formación de la biopelícula de *Candida* sp. y evaluación de nuevas combinaciones farmacológicas. Recuperado de: [https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/43758/1/Tesis\\_FernandezRivero.pdf](https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/43758/1/Tesis_FernandezRivero.pdf)
- Fuñica, (2009). Uso y manejo de *Paecilomyces lilacinus* para el control de nematodos.
- Gnanavel, G., Jeya, M., Thirumarimurugan, M & Kannadasan, T. (2012). Degradation of Plastics Using Microorganisms.
- Gonzales, T. (2015). Determinación de la calidad del aire en la Universidad Libre seccional Bogotá sede Bosque Popular. Disponible en: [https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/7951/Proyecto%20Calidad%20del%20Aire%20U%20Libre%20\(1\)%20\(1\).pdf?sequence=1](https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/7951/Proyecto%20Calidad%20del%20Aire%20U%20Libre%20(1)%20(1).pdf?sequence=1)
- GREENPEACE. (2018). Colombia, mejor sin plásticos. Recuperado de: [http://greenpeace.co/pdf/reporte\\_plasticos.pdf](http://greenpeace.co/pdf/reporte_plasticos.pdf)
- Grisa, A., Simioni, T., Cardoso, V., Zeni, M., Brandalise, R & Zopas, B. (2011). Degradación biológica del PVC en vertedero y evaluación microbiológica. Recuperado de: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282011000300009&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282011000300009&lng=pt&tlng=pt)
- Hassan, F., Akbar, F., Rashid, F., Roomi, S., Ghafoor, A., & Suleman, M. (2014). Assessment of biodegradability of PVC containing cellulose by white rot fungus. *Malaysian Journal of Microbiology*, 10(2), 119–125.
- Herazo, V., Delgado, J & Sosa, C. (2018). Formulación y evaluación de un proyecto de inversión para la implementación de un modelo de disposición y recolección de material PET posconsumo en la ciudad de Bogotá D.C. Recuperado de:

[http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/13573/3/SosaMonta%C3%B1oCri  
stiamAlejandro2018](http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/13573/3/SosaMonta%C3%B1oCri<br/>stiamAlejandro2018)

- Iñiguez, M. (2019). Estudio de la contaminación marina por plásticos y evaluación de contaminantes derivados de su tratamiento. Recuperado de: [https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/92547/1/tesis\\_maria\\_esperanza\\_iniguez\\_cantos.pdf](https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/92547/1/tesis_maria_esperanza_iniguez_cantos.pdf)
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2016). Documentación toxicológica para el establecimiento del límite de exposición profesional del cloruro de polivinilo (PVC). Recuperado de: [https://www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/LEP%20 VALORES%20 LIMITE/Doc\\_Toxicologica/capitulos%20101\\_106/ficheros/DLEP%20105.pdf](https://www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/LEP%20 VALORES%20 LIMITE/Doc_Toxicologica/capitulos%20101_106/ficheros/DLEP%20105.pdf)
- Jaka, C., Gajendiran, A., Chacko, A. M., & Abraham, J. (2016). Biological and Chemical Sciences Fungal mediated degradation of low-density polyethylene by a novel strain. Research Journal of Pharmaceutical, 7(3123), 3123–3130.
- Jiakang, R., Yixin, H & Yang, Y. (2020). Microbial Degradation and Valorization of Plastic Wastes. Frontiers in Microbiology. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7186362/>
- Jones, G. (1994). Fungal adhesion. Mycological Research, Volumen 98, pp. 961-981. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80421-8](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80421-8)
- Kaczmarek, H & Bajer, K. (2007). Biodegradation of plasticized polyvinyl chloride containing cellulose. Polymer Science.

- Khanna, S., & Srivastava, A. K. (2005). Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochemistry*, 40(September 2003), 607–619. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.053>
- Kirbas, Z., Keskin, N & Guner, A. (1999). Biodegradation of Polyvinylchloride (PVC) by White Rot Fungi. 63, 335 –342.
- Kuhar, F & Sequeira, A. (2018). Los hongos al microscopio. Revista Boletín Biológica N° 40. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/329924203\\_Los\\_hongos\\_al\\_microscopio](https://www.researchgate.net/publication/329924203_Los_hongos_al_microscopio)
- Labeaga, A. (2018). Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. Universidad Nacional de Educación a Distancia- España. Recuperado de: [http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Alabeaga/Labeaga\\_Viteri\\_Aitziber\\_TFM.pdf](http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Alabeaga/Labeaga_Viteri_Aitziber_TFM.pdf)
- Lascano, S & Narváez, L. (2010). \_Mejoramiento de la capacidad portante del CBR de una subbase granular con material proveniente de la provincia de Esmeraldas por medio de la adición de desechos de PVC. Recuperado de: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/2662/T-PUCE-3422.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- López, L., Hernández, M., Colín, C., Ortega, S., Cerón, G., & Franco, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Medigraphic, 3, 10–18. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2014/ir141b.pdf>
- Loredó, A., Arguello, A., Herrera, R., Sánchez, G., Escamilla, A & Aguilar, C. (2017). Biodegradación fúngica de poliuretano rígido. Recuperado de: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422017000800885](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422017000800885)

- Loredó, A., Arguello, A., Rodríguez, R., Gutiérrez, G., Escamilla, A & Aguilar, C. (2017). Biodegradación fúngica de poliuretano rígido. *Química Nova* Vol. 40 No. 8 Sao Paulo. Recuperado de: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422017000800885](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422017000800885)
- MADS. (2004). Guías Ambientales “Sector Plásticos”- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Recuperado de: <https://redjusticiaambientalcolombia.files.wordpress.com/2012/09/guias-ambientales-sector-plc3a1sticos.pdf>
- Méndez, C. R., Vergaray, G., & Béjar, V. R. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. *Perú Biología*, 13(3), 203–205. Avances de las ciencias biológicas en el Perú. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v13n3/v13n03a08>
- Mexichem. (2016). Demanda en Colombia de PVC según su uso.
- Minter. (2007). Descripciones IMI de hongos y bacterias (CABI). DOI: 10.1079/DFB/20073083190. Recuperado de: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20073083190>
- Mondragón, P. (2000). Espectroscopia de infrarrojo para todos. Recuperado de: [https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion\\_5a43b7c09fdc1.pdf](https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5a43b7c09fdc1.pdf)
- Morales, L. (2009). Los hongos. Innovación y Experiencias Educativas, 1-8. Recuperado de: [https://archivos.csif.es/archivos/andalucia/ensenanza/revistas/csicsif/revista/pdf/Nu\\_mero\\_17/MARIA%20LUISA\\_MORALES\\_1.pdf](https://archivos.csif.es/archivos/andalucia/ensenanza/revistas/csicsif/revista/pdf/Nu_mero_17/MARIA%20LUISA_MORALES_1.pdf)



- Muhammad, I., Qaiser, P., Imran, J., Raja, R., Saadia, A., Naima, A., Pir, B., Safia, A & Abdul, H. (2009). Studies on Biodegradation of Cellulose Blended Polyvinyl Chloride Films.
- Muhammad, I., Safia, A., Geoff, R., Imran, J., Naeem, A., Naima, A & Abdul, H. (2013). Isolation and molecular characterization of polyvinyl chloride (PVC) plastic degrading fungal isolates. Recuperado de: <https://doi.org/10.1002/jobm.201200496>
- Navia, Villada & Mosquera. (2010). Las biopelículas en la industria de alimentos. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n2/v8n2a15.pdf>
- OMS. (2019). La OMS anima a investigar sobre los microplásticos y a reducir drásticamente la contaminación por plásticos. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/detail/22-08-2019-who-calls-for-more-research-into-microplastics-and-a-crackdown-on-plastic-pollution>
- ONU. (2018). Plásticos de un solo uso: Una hoja de ruta para la sostenibilidad. Recuperado de: [https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/25496/singleUsePlastic\\_S\\_P.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/25496/singleUsePlastic_S_P.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
- Ortega, I., Coria, A & Gonzales, C. (2016). Reciclado de PVC: medida ecológica y oportunidad de negocio en la elaboración de láminas para de techo.
- Pacheco, C., Fuentes, L., Sánchez, E & Rondón, H. (2017). Residuos de construcción y demolición (RCD), una perspectiva desaprovechamiento para la ciudad de barranquilla desde su modelo de gestión. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/inde/v35n2/2145-9371-inde-35-02-00533.pdf>

- Pardo, L. (2018). Estudio de la degradación de policloruro de vinilo sin plastificante a partir de hongos aislados de una muestra de suelo contaminado con resina de dicho material. Universidad Libre
- Pescador, G. (2013). Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos. Instituto de Geología- Departamento de edafología. Recuperado de: [https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis\\_gutierrez\\_pescador.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_gutierrez_pescador.pdf)
- Plastivida. (2007). Residuos plásticos su aprovechamiento como necesidad. Recuperado de: <http://ecoplas.org.ar/pdf/2.pdf>
- Quiñones, W. (2014). Presencia de residuos plásticos y su repercusión sobre la biomasa en zonas circundantes al botadero de residuos sólidos de la municipalidad de puno -2014. Recuperado de: [http://repositorio.upsc.edu.pe/bitstream/handle/UPSC/4390/William\\_QUI%C3%91O\\_NES\\_GARCIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upsc.edu.pe/bitstream/handle/UPSC/4390/William_QUI%C3%91O_NES_GARCIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Rambelli, A, Venturella, G & Ciccarone. (2009). More Dematiaceous Hyphomycetes from pantelleria mediterránea maquis litter. Recuperado de: <https://www.herbmedit.org/flora/19-081.pdf>
- Realpe, S. (2009). Estudio de la contaminación del agua por productos fabricados a base de PVC usando espectroscopia de absorción atómica y quimiometría. Recuperado de: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/236/1/236T0023.pdf>

- Resolución 1407 de 2018. Por la cual se reglamenta la gestión ambiental de los residuos de envases y empaques de papel, cartón, plástico, vidrio, metal y se toman otras determinaciones. Julio 26 de 2018. DO. N° 50673.
- Reyes, L. (2008). Reciclado de plástico para la agricultura. Recuperado de: <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/462/1/Luis%20Miguel%20Reyes%20Castillo.pdf>
- Roberts, W & Davidson, P. (1986). Growth characteristics of selected fungi on polyvinyl chloride film. Applied and environmental microbiology, 51(4):673-6. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3707118>
- Rodríguez, J., Soares, M., Ferreira, L & Megumi, M. (2019). Plastics Polymers Degradation by Fungi. Recuperado de: <https://www.intechopen.com/online-first/plastics-polymers-degradation-by-fungi>
- Romero, C. (2017) Clase forma Deutromicetos. Universidad de Sevilla. Recuperado de: [https://personal.us.es/zarco/carromzar/Botanica\\_I/Temas\\_Botanica\\_I/T13\\_Deutromicetos.html](https://personal.us.es/zarco/carromzar/Botanica_I/Temas_Botanica_I/T13_Deutromicetos.html)
- Sakhalkar, S & Mishra, R. (2013). Studies on Degradation of Poly Vinyl Chloride (PVC) by Soil Mycoflora. Recuperado de: [https://www.worldwidejournals.com/indian-journal-of-applied-research-\(IJAR\)/recent\\_issues\\_pdf/2013/November/November\\_2013\\_1493096772\\_11.pdf](https://www.worldwidejournals.com/indian-journal-of-applied-research-(IJAR)/recent_issues_pdf/2013/November/November_2013_1493096772_11.pdf)
- Sánchez, R., Flores, L., Padilla, I., Barbosa, G & Sabaner, M. (2014). Formación de biopelículas en el hongo patógeno *Sporothrix schenckii*: desarrollo, arquitectura y características bioquímicas. Recuperado de:

<https://pdfs.semanticscholar.org/1e0e/92548adc91b5733d2568ade1bd487b918025.pdf>

- Sandoval, M., Fernández, J., Seguel, O., Becerra, J & Rivera, D. (2011). Métodos de análisis físico de suelos. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Recuperado de: [http://www.trapananda.uach.cl/proyectos/desarrollo/lib/exe/fetch.php?media=proyectos:metodos\\_analisis\\_fisico\\_suelos.pdf](http://www.trapananda.uach.cl/proyectos/desarrollo/lib/exe/fetch.php?media=proyectos:metodos_analisis_fisico_suelos.pdf)
- Sangale, M., Shahnawaz, M & Ade, A. (2012). A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach. Bioremediation & Biodegradation. Volumen 3. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000164>
- Sumathi, T., Buddolla V., Lakshmi, A & SaiGopal. (2016). Production of Laccase by Cochliobolus sp. Isolated from Plastic Dumped Soils and Their Ability to Degrade Low Molecular Weight PVC. Recuperado de : <https://doi.org/10.1155/2016/9519527>
- Téllez, A. (2012). La complejidad de la problemática ambiental de los residuos plásticos: una aproximación al análisis narrativo de política pública en Bogotá- Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/7080/1/905077.2012.pdf>
- Uribe, D., Giraldo, D., Gutiérrez, S & Merino, F. (2010). Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú. Revista Peruana de Biología 17(1), 133-136. Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332010000100017&script=sci\\_arttext&lng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332010000100017&script=sci_arttext&lng=en)

- Viannis. (2019). La espectroscopia molecular en la caracterización del PVC.  
Recuperado de: <https://steemit.com/stem-espanol/@viannis/la-espectroscopia-molecular-en-la-caracterizacion-del-pvc>
- Viví, V., Martins, S & Attili, D. (2019). Biodegradation of PCL and PVC: Chaetomium globosum (ATCC 16021) activity. Recuperado de:  
<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/176398/2-s2.0-85048065917.pdf?sequence=1>
- WWF. (2019). Solución al plástico: contaminación asumiendo responsabilidades.  
Recuperado de:  
[http://d2ouvy59p0dg6k.cloudfront.net/downloads/informe\\_plastico\\_wwf.pdf](http://d2ouvy59p0dg6k.cloudfront.net/downloads/informe_plastico_wwf.pdf)